

(12) DEMANDE INTERNATIONALE PUBLIÉE EN VERTU DU TRAITÉ DE COOPÉRATION
EN MATIÈRE DE BREVETS (PCT)(19) Organisation Mondiale de la Propriété
Intellectuelle
Bureau international(43) Date de la publication internationale
8 août 2002 (08.08.2002)

PCT

(10) Numéro de publication internationale
WO 02/060880 A1(51) Classification internationale des brevets⁷ :
C07D 239/54, A61K 31/505

HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NO, NZ, OM, PH, PL, PT, RO, RU, SD, SE, SG, SI, SK, SL, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VN, YU, ZA, ZM, ZW.

(21) Numéro de la demande internationale :
PCT/EP02/00839(22) Date de dépôt international :
25 janvier 2002 (25.01.2002)

(84) États désignés (régional) : brevet ARIPO (GH, GM, KE, LS, MW, MZ, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), brevet eurasien (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), brevet européen (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE, TR), brevet OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

(25) Langue de dépôt : français

(26) Langue de publication : français

(30) Données relatives à la priorité :
01/01165 29 janvier 2001 (29.01.2001) FR
01/08052 19 juin 2001 (19.06.2001) FR

Déclarations en vertu de la règle 4.17 :

- relative au droit du déposant de demander et d'obtenir un brevet (règle 4.17.ii) pour les désignations suivantes AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NO, NZ, OM, PH, PL, PT, RO, RU, SD, SE, SG, SI, SK, SL, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, UZ, VN, YU, ZA, ZM, ZW, brevet ARIPO (GH, GM, KE, LS, MW, MZ, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), brevet eurasien (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), brevet européen (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE, TR), brevet OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG)
- relative au droit du déposant de revendiquer la priorité de la demande antérieure (règle 4.17.iii) pour toutes les désignations
- relative à la qualité d'inventeur (règle 4.17.iv) pour US seulement

(71) Déposants (pour tous les États désignés sauf US) : UNIVERSITE DE GENEVE [CH/CH]; 24, rue du General Dufour, CH-1211 Geneve 4 (CH). MAYOLY SPINDLER [FR/FR]; 6, avenue de l'Europe, F-78400 Chatou (FR).

(72) Inventeur; et

(75) Inventeur/Déposant (pour US seulement) : TRONCHET, Jean, M., J. [FR/FR]; 254, route de Vesancy, F-01220 Grilly (FR).

(74) Mandataires : PAUTEX SCHNEIDER, Nicole etc.; c/o Novapat International S.A., 25, avenue du Pailly, CH-1220 Les Avanchets (CH).

(81) États désignés (national) : AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM,

[Suite sur la page suivante]

(54) Title: PYRIMIDINE ACYCLONUCLEOSIDE DERIVATIVES, PREPARATION METHOD AND USE THEREOF

(54) Titre : DERIVES D'ACYCLONUCLEOSIDES PYRIMIDINIQUES, LEUR PROCEDE DE PREPARATION ET LEUR UTILISATION

(57) Abstract: The invention relates to a compound having general formula (I): wherein n is equal to 3; R¹ is an ethyl or isopropyl group; each of the R² groups is independently of each other a hydrogen atom, a C₁-C₃ alkyl group or a halogen atom; one of the R³ and R⁴ groups represents a hydrogen atom while the other of the R³ and R⁴ groups represents an OH or OR⁵ group, where R⁵ can be a C₂-C₇ acyl group, an alkyl(C₁-C₆)amino-carbonyl group, an aralkyl(C₁-C₆)aminocarbonyl optionally substituted on the aryl, an arylcarbonyl group optionally substituted or a heteroarylaminocarbonyl group. Said compound is particularly suitable as an antiviral agent and especially as an anti-HIV-1 agent.(57) Abrégé : on décrit un composé ayant la formula générale (I): dans laquelle n est égal à 3; R¹ est un groupe éthyle ou isopropyle; chacun des groupes R² est indépendamment l'un de l'autre un atome d'hydrogène, un groupe alkyl en C₁-C₃ ou un atome d'halogène; l'un des groupes R³ et R⁴ représente un atome d'hydrogène alors que l'autre des groupes R³ et R⁴ représente un groupe -OH ou -OR⁵ peut être un groupe acyle en C₂-C₇, un groupe alkyl(en C₁-C₆)amino-carbonyle, un groupe aralkyl(C₁-C₆)aminocarbonyle éventuellement substitué sur l'aryle, un groupe arylcarbonyle éventuellement substitué ou un groupe hétéroarylaminocarbonyle. Ce composé est particulièrement utile comme agent antiviral, et notamment comme agent anti-VIH-1.



Publiée :

- avec rapport de recherche internationale
- avant l'expiration du délai prévu pour la modification des revendications, sera republiée si des modifications sont reçues

En ce qui concerne les codes à deux lettres et autres abréviations, se référer aux "Notes explicatives relatives aux codes et abréviations" figurant au début de chaque numéro ordinaire de la Gazette du PCT.

DERIVES D'ACYCLONUCLEOSIDES PYRIMIDINIQUES, LEUR PROCEDE DE PREPARATION ET LEUR UTILISATION

Domaine technique

- 5 La présente invention concerne des dérivés d'acyclonucléosides pyrimidiniques actifs comme inhibiteurs non nucléosidiques de la transcriptase inverse du VIH-1, leur procédé de préparation et leur utilisation.

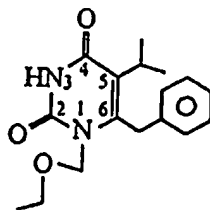
Etat de la technique

- 10 La tendance actuelle dans le traitement du SIDA consiste à faire appel à des polythérapies n'incluant plus les antiprotéases dont les effets secondaires sont gênants et les modalités de prise du médicament contraignantes pour le patient.

- Les polythérapies préconisées comportent donc un ou deux inhibiteurs
15 nucléosidiques auxquels sont associés un ou deux inhibiteurs non nucléosidiques [G. J. Moyle, *Infect. Med.* **17(6)** 442-455 (2000)].

Il est donc important de développer de nouveaux inhibiteurs allostériques de la transcriptase inverse pourvus d'une grande activité spécifique et d'une faible toxicité.

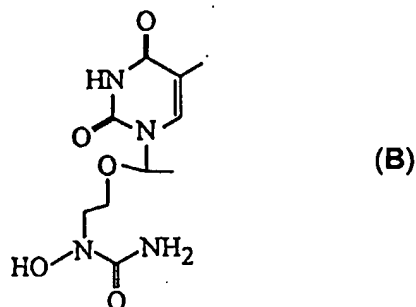
- 20 Des inhibiteurs allostériques de la transcriptase inverse à structure d'acyclonucléosides sont décrits par exemples dans les demandes de brevet EP-A-0 449 726 , WO-A-97/43266, WO-A-97/30979, WO-A-96/16675, WO-A-95/18109, EP-A-0 631 783, EP-A-0 420 763, l'exemple le plus connu
25 étant l' EMIVIRINE ayant la Formule A suivante :



(A)

- Ces inhibiteurs allostériques de la transcriptase inverse à structure
d'acyclonucléosides agissent à des concentrations nanomolaires et ils ont le
35 désavantage de sélectionner très rapidement des mutants résistants.

D'autre part, il a été montré par J. M. J. Tronchet, M. Zsély, M. Iznaden, F. Barbalat-Rey, M. Geoffroy & G. Bernardinelli, *Carbohydr. Lett.* **2**, 101-108 (1996) en relation avec le composé de Formule **B** suivante :



qu'un reste *N*-hydroxyuréido fixé en ω sur le radical porté par N-1 d'une thymine se comportait comme une « pseudo-nucléobase » contractant dans le cristal deux liaisons hydrogène (par son groupe CONH₂) avec la nucléobase d'une autre molécule tandis que le groupe N-OH fonctionnait comme donneur de liaison hydrogène vis-à-vis de l'atome d'oxygène d'un alcool.

Le groupement *N*-hydroxyuréido pouvait donc constituer un candidat intéressant pour
contracter de nouvelles liaisons avec le site allostérique de la transcriptase inverse et
20 éventuellement à l'extérieur de celui-ci avec des nucléobases des acides nucléiques
« traités » par l'enzyme.

En outre, du point de vue de la cytotoxicité des produits, le groupement *N*-hydroxyuréido pouvait également se révéler un bon candidat car une étude structure-activité d'acyclonucléosides actifs contre le VIH-1 avait montré qu'un

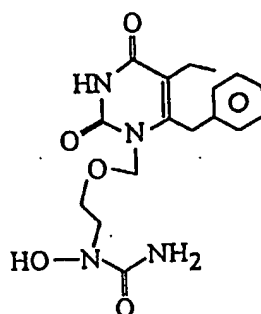
25 groupement hydrophile fixé en N-1 sur la nucléobase devait diminuer la cytotoxicité du composé [J. M. J. Tronchet, M. Grigorov, N. Dolatshahi, F. Moriaud & J. Weber, *Eur. J. Med. Chem.*, **32**, 279-299 (1997)].

30 Ainsi, en introduisant un groupe *N*-hydroxyuréido en position ω de la chaîne fixée en N-1 d'une pyrimidine substituée en C-4 et C-5, on pouvait espérer améliorer l'activité anti-VIH-1 des produits analogues déjà connus.

Cependant, le groupement *N*-hydroxyuréido ne s'est pas révélé suffisant pour assurer une activité puisque le premier composé préparé, à savoir le composé ayant la Formule B ci-dessus s'est révélé totalement inactif contre VIH-1 et le second composé préparé, à savoir le composé ayant la Formule C suivante

- 5 [J. M. J. Tronchet, M. Iznaden, & N. Laroze, *Carbohydr. Lett.* **2**, 313-320 (1997)] s'est révélé très modérément actif (CI_{50} 70 nM).

10

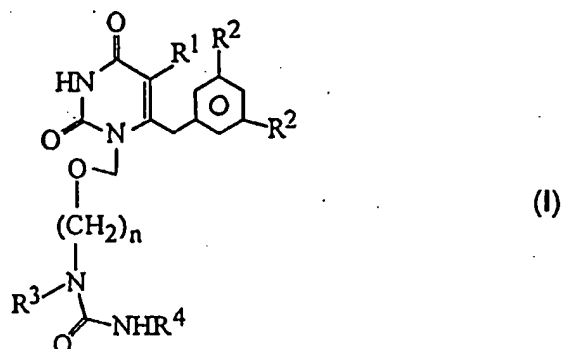


(C)

- 15 Sur la base de ces faits, les présents inventeurs ont poursuivi leurs recherches et ils ont trouvé avec surprise qu'en rallongeant la chaîne située entre la nucléobase et le groupe *N*-hydroxyuréido de un atome de carbone pour passer d'une chaîne à deux atomes de carbone à une chaîne à trois atomes de carbone, on pouvait obtenir un acyclonucléoside atoxique et actif contre VIH-1 à des concentrations bien plus
- 20 faibles que celles atteintes jusqu'alors avec des produits analogues déjà connus, alors que la même homologation effectuée sur l'analogue du composé de Formule C portant un groupe hydroxyle à la place du groupe *N*-hydroxyuréido [cf. N. Laroze, Université de Genève, Thèse No. 3212 (2000)] diminuait sensiblement l'activité.
- 25 La présente invention a été réalisée sur la base de ces résultats.

Exposé de l'invention

La présente invention a pour objet un composé de Formule générale I suivante :



dans laquelle :

- n est égal à 3;
- R¹ représente un groupe éthyle ou un groupe isopropyle;
- 15 - chacun des groupes R² représente indépendamment l'un de l'autre un atome d'hydrogène, un groupe alkyle en C₁-C₃, ou un atome d'halogène;
- l'un des groupes R³ et R⁴ représente un atome d'hydrogène alors que l'autre des groupes R³ et R⁴ représente un groupe -OH ou -OR⁵, où R⁵ peut être un groupe acyle en C₂-C₇, un groupe alkyl(en C₁-C₆)aminocarbonyle, un groupe
- 20 aralkyl(C₁-C₆)aminocarbonyle éventuellement substitué sur l'aryle, un groupe arylcarbonyle éventuellement substitué ou un groupe hétéroarylamino carbonyle, ou un sel pharmaceutiquement acceptable de celui-ci.

La présente invention a également pour objet :

- 25 - un composé de Formule I tel que défini ci-dessus pour utilisation comme médicament;
- un composé de Formule I tel que défini ci-dessus pour utilisation comme agent antiviral, notamment comme agent anti-VIH-1;
- un procédé de préparation d'un composé de Formule I tel que défini ci-dessus;
- 30 - une composition pharmaceutique contenant en tant qu'ingrédient actif au moins un composé de Formule I tel que défini ci-dessus;
- une composition pharmaceutique contenant une quantité efficace comme antiviral d'un composé de Formule I tel que défini ci-dessus; et

- l'utilisation d'un composé de Formule I tel que défini ci-dessus pour la fabrication d'un médicament anti-VIH-1;

étant entendu que par "composé de Formule I tel que défini ci-dessus", il faut également comprendre un sel pharmaceutiquement acceptable de celui-ci.

5

Description de la Figure

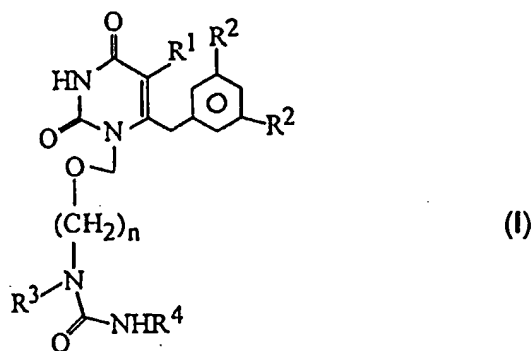
La Figure représente des antivirogrammes de trois acyclonucléosides réalisés sur deux marqueurs antiviraux, à savoir la transcriptase inverse et P24, pour évaluer l'activité antirétrovirale de ces trois acyclonucléosides sur VIH-1 lai.

10

Description détaillée de l'invention.

Le composé de la présente invention est représenté par la Formule générale I suivante :

15



20

dans laquelle n est égal à 3.

25 Le groupe R^1 peut être soit un groupe éthyle soit un groupe isopropyle mais de préférence, le groupe R^1 est un groupe isopropyle.

Les groupes R^2 peuvent être chacun indépendamment l'un de l'autre un atome d'hydrogène, un groupe alkyle en C_1 - C_3 , par exemple un méthyle, un éthyle, un
30 n-propyle ou un isopropyle, ou un atome d'halogène, par exemple un chlore, un brome, un iode ou un fluor.

De préférence, les groupes R^2 sont identiques et ils représentent chacun un groupe méthyle.

L'un des groupes R^3 et R^4 représente un atome d'hydrogène alors que l'autre des groupes R^3 et R^4 représente un groupe -OH ou un groupe -OR⁵, où R⁵ est un groupe protecteur du groupe-hydroxy.

- 5 Ainsi, lorsque le groupe R^3 est un groupe -OH ou un groupe -OR⁵, le groupe R^4 est un atome d'hydrogène; et lorsque le groupe R^3 est un atome d'hydrogène, le groupe R^4 est un groupe -OH ou un groupe -OR⁵.

- 10 Cependant, il est préférable que le groupe R^3 soit un groupe -OH ou un groupe -OR⁵ et que le groupe R^4 soit un atome d'hydrogène.

Le groupe R⁵ doit être choisi parmi les groupes de protection de l'hydroxy qui puissent être facilement libérés dans un milieu biologique et qui sont non toxiques.

- 15 Le groupe R⁵ est ainsi choisi parmi un groupe acyle en C₂-C₇, un groupe alkyl(en C₁-C₆)aminocarbonyle, un groupe aralkyl(en C₁-C₆)aminocarbonyle éventuellement substitué sur l'aryle, un groupe arylcarbonyle éventuellement substitué ou un groupe hétéroarylamino-carbonyle, étant entendu que le groupe acyle et le groupe alkyle des groupes alkyl(en C₁-C₆)aminocarbonyle et
20 aralkyl(en C₁-C₆)aminocarbonyle peuvent être ramifiés ou non.

Des exemples du groupe acyle en C₂-C₇ incluent un groupe acétyle, un groupe propionyle, un groupe butyryle ou un groupe pivaloyle, sans être limités à ceux-ci.

- 25 Des exemples du groupe alkyl(en C₁-C₆)aminocarbonyle incluent un groupe méthylaminocarbonyle, un groupe éthylaminocarbonyle, un groupe propylaminocarbonyle, un groupe isopropylaminocarbonyle, un groupe butylaminocarbonyle, un groupe pentylaminocarbonyle ou un groupe hexylaminocarbonyle, sans être limités à ceux-ci.

- 30 Des exemples du groupe aralkyl(en C₁-C₆)aminocarbonyle éventuellement substitué sur l'aryle incluent un groupe benzylaminocarbonyle, un groupe phénéthylaminocarbonyle, un groupe phényl-3-propylaminocarbonyle, un groupe phényl-4-butylaminocarbonyle, un groupe phényl-5-pentylaminocarbonyle ou un
35 groupe phényl-6-hexylaminocarbonyle, ainsi que les groupes aralkyl(en C₁-C₆)-aminocarbonyle ci-dessus dans lesquels l'aryle porte 1 ou 2 substituants choisis

parmi les halogènes, par exemple un chlore, un brome, un fluor ou un iode, les alkyles en C₁-C₃, par exemple un méthyle, un éthyle, un propyle ou un isopropyle et les groupes alcoxy en C₁-C₃, par exemple un méthoxy, un éthoxy, un propoxy ou un isopropoxy, sans être limités à ceux-ci.

5

Des exemples du groupe arylcarbonyle éventuellement substitué incluent un groupe benzoyle, un groupe p-chlorobenzoyle, un groupe p-méthoxybenzoyle ou un groupe p-nitrobenzoyle, sans être limités à ceux-ci.

10

Des exemples du groupe hétéroarylamino-carbonyle incluent un groupe isoxazol-3-ylaminocarbonyle, un groupe isoxazol-4-ylaminocarbonyle, un groupe isoxazol-5-ylaminocarbonyle, un groupe pyridin-2-ylaminocarbonyle ou un groupe pyridine-3-ylaminocarbonyle, sans être limités à ceux-ci.

15

Ces composés de Formule I de la présente invention peuvent être sous la forme de sels pharmaceutiquement acceptables conventionnels de ceux-ci.

Les composés de la présente invention peuvent être préparés selon les schémas réactionnels suivants dans lesquels n, R¹, R², R³, R⁴ et R⁵ ont les mêmes significations que celles définies ci-dessus.

20

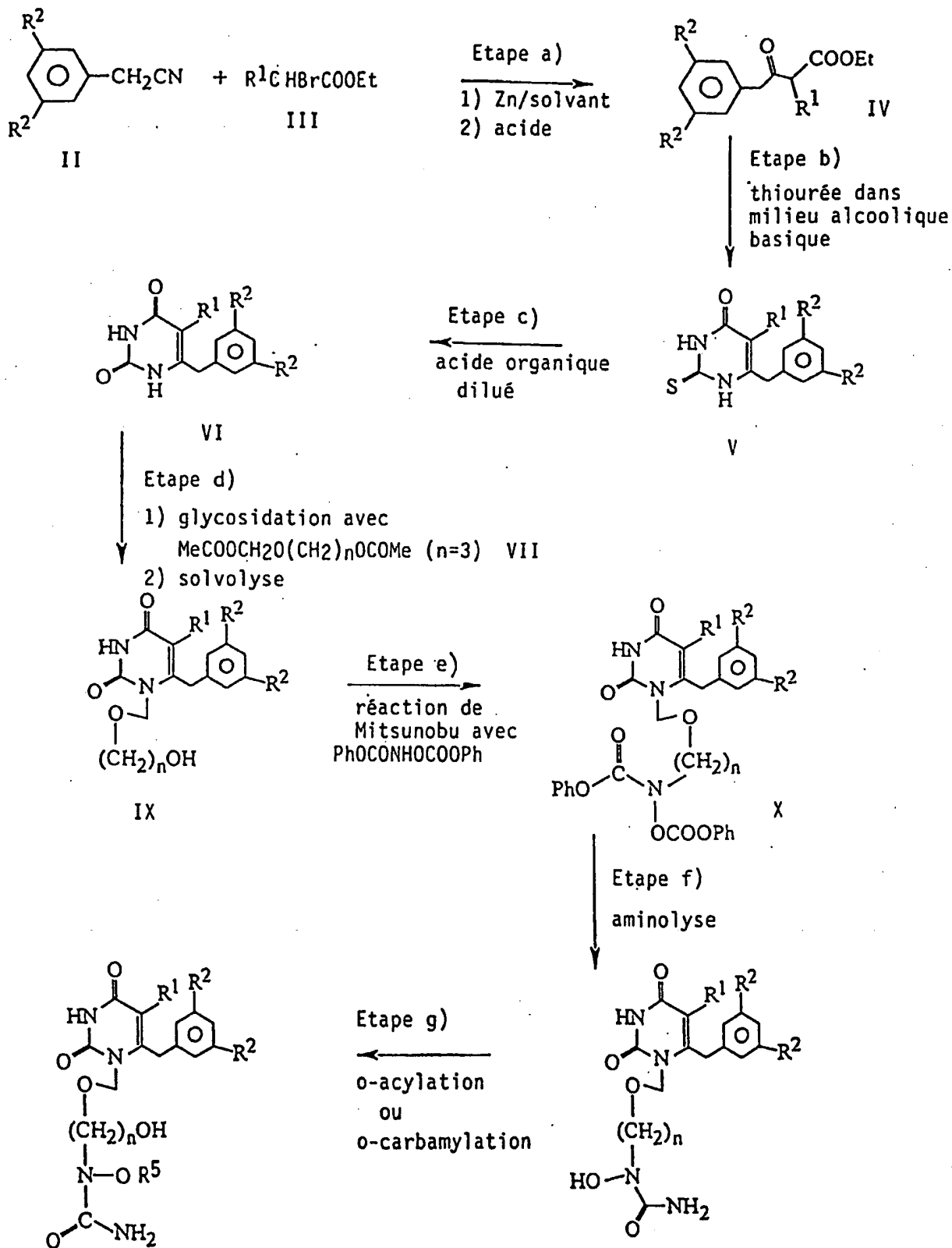
Le Schéma réactionnel 1 suivant montre les étapes du procédé de préparation du composé de Formule I de la présente invention dans lequel R³ est un groupe -OH ou un groupe -OR⁵ et R⁴ est un atome d'hydrogène :

25

30

35

Schéma réactionnel 1



Les nucléobases représentées par les Formules V et VI ci-dessus sont connues et elles sont habituellement préparées par substitution électrophile [cf., p. ex. Y. S. Lee & Y. H. Kim, *Synth. Commun.* **29(9)** 1503-17 (1999)].

- 5 Toutefois, dans le procédé de la présente invention, le cycle pyrimidine des nucléobases modifiées de Formules V et VI a été construit par condensation selon le principe de la technique décrite dans S.M. Hannick & Y. Kishi, *J. Org. Chem.*, **48**, 3833-3835 (1983), ce qui permet d'accéder à une grande variété de bases différant par la nature des groupes R¹ et R².

- 10 Ainsi, la première étape du procédé, dite étape a), consiste à faire réagir un phénylétananitrile de Formule II avec un composé de Formule III, en présence de Zn dans un solvant approprié, par exemple un éther tel que le tétrahydrofurane, à une température appropriée, par exemple à reflux, puis à traiter le mélange obtenu avec
15 un acide, par exemple l'acide chlorhydrique, pour obtenir le composé de Formule IV.

- Ensuite, dans une étape b), ce composé de Formule IV est mis à réagir avec de la thiourée dans un milieu alcoolique basique, par exemple dans un milieu sodium/éthanol (Na/EtOH), à une température appropriée, par exemple à reflux, pour
20 obtenir le thiouracile de Formule V.

- Le thiouracile de Formule V est ensuite transformé dans une étape c) en uracile de Formule VI par traitement avec un acide organique dilué approprié, par exemple de l'acide chloroacétique 10 %.

- 25 La fixation de la chaîne sur N¹ de la nucléobase de Formule VI est effectuée dans une étape d) par une réaction de glycosidation conventionnelle avec un composé de Formule VII dans lequel n est égal à 3, par exemple en présence d'hexaméthylidisilazane (HMDS), de chlorotriméthylsilane (TMSCl) et de tétrachlorure d'étain (SnCl₄) suivie d'une solvolysé de l'ester obtenu, par exemple dans un milieu
30 méthanol/triéthylamine (MeOH/Et₃N), pour fournir l'alcool de Formule IX.

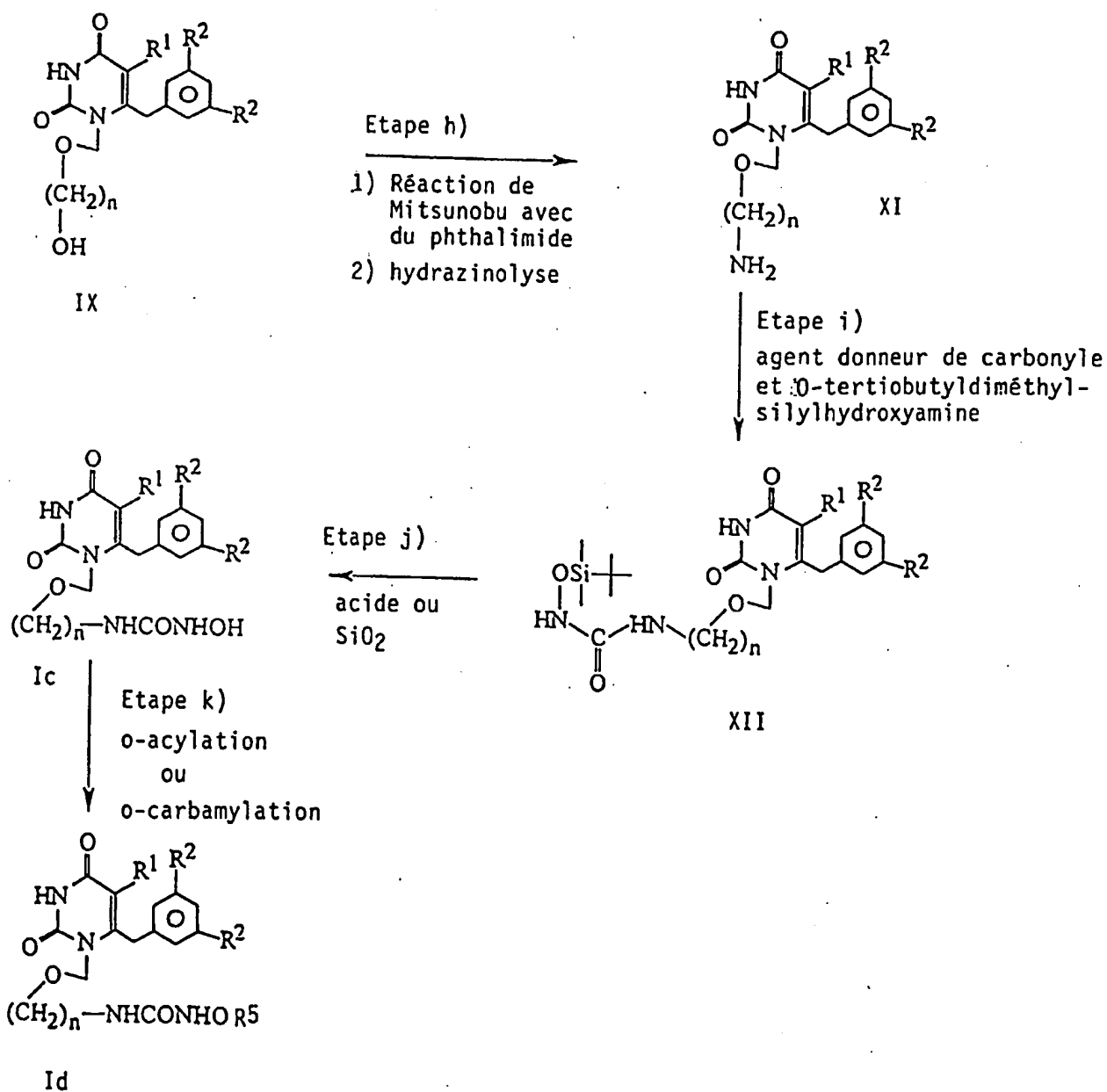
- L'alcool de Formule IX est ensuite soumis à une réaction de Mitsunobu pour remplacer son groupement -OH par un groupement azoté qui conduira au groupe
35 N-hydroxyuréido.

- Ainsi, le traitement de l'alcool de Formule IX dans les conditions d'une réaction de Mitsunobu conventionnelle en utilisant la *N,O*-bis(phénoxy-carbonyl)hydroxylamine comme nucléophile (étape e) fournit le composé de Formule X qui, après aminolyse conventionnelle (étape f), par exemple avec de l'ammoniac ou un amidure dans un solvant approprié, conduit au composé de Formule Ia de la présente invention qui porte un groupe *N*¹-hydroxyuréido terminal, à savoir un composé de la présente invention de Formule I dans lequel R³ représente un groupe -OH et R⁴ représente un atome d'hydrogène.
- 10 Le composé de Formule Ia peut ensuite être transformé par une réaction d'O-acylation ou d'O-carbamylation (étape g) en un composé de la présente invention de Formule Ib, à savoir un composé de la présente invention de Formule I dans lequel R³ représente un groupe -OR⁵ et R⁴ représente un atome d'hydrogène, comme suit.
- 15 Le composé de Formule Ia de la présente invention peut être soumis à une réaction d'O-acylation conventionnelle, par exemple avec un agent acylant conventionnel de formule générale X-CO-R⁶ (où R⁶ est un groupe alkyle en C₁-C₆ qui peut être ramifié ou non, ou un groupe aryle éventuellement substitué, X pouvant être par exemple un atome d'halogène ou un groupe R⁶COO-, sans que X soit limité à ceux-ci), pour
- 20 conduire au composé monoacylé de Formule Ib de la présente invention dans lequel R⁵ est un groupe acyle en C₂-C₇ ou un groupe arylcarbonyle éventuellement substitué, plus lipophile que son précurseur Ia et dans lequel le groupe N-OH est protégé contre l'oxydation.
- 25 Le composé de Formule Ia de la présente invention peut également être soumis à une réaction d'O-carbamylation conventionnelle, par exemple avec un agent de carbamylation conventionnel de formule générale X-CO-NH-R⁷ (où R⁷ est un groupe alkyle en C₁-C₆ qui peut être ramifié ou non, un groupe aralkyle en C₁-C₆ éventuellement substitué sur l'aryle et dont le groupe alkyle peut être ramifié ou non, ou un groupe hétéroaryle, X pouvant être par exemple un atome d'halogène, sans que X soit limité à ceux-ci) pour conduire au composé de la présente invention de
- 30 Formule Ib dans lequel R⁵ est un groupe alkyl(en C₁-C₆) aminocarbonyl, un groupe aralkyl(en C₁-C₆) aminocarbonyl éventuellement substitué sur l'aryle, ou un groupe

hétéroarylamino-carbonyle, plus lipophile que son précurseur Ia et dans lequel le groupe N-OH est protégé contre l'oxydation.

Pour obtenir un composé de la présente invention de Formule I dans lequel R³ est un
 5 atome d'hydrogène et R⁴ est un groupe -OH ou un groupe -OR⁵, on se référera au Schéma réactionnel 2 suivant :

Schéma réactionnel 2



L'alcool de Formule IX obtenu comme dans les étapes a) à d) décrites ci-dessus en référence au Schéma réactionnel 1 est soumis, dans une étape h), à une réaction de Mitsunobu conventionnelle en utilisant le phtalimide comme nucléophile, suivie d'une hydrazinolyse conventionnelle pour conduire à l'amine de Formule XI.

5

Ensuite, dans une étape i), cette amine de Formule XI est traitée de manière conventionnelle par un agent donneur de carbonyle, par exemple le carbonyldiimidazole ou le phosgène, et la O-tertiobutyldiméthylsilylhydroxylamine fournit le composé de Formule XII.

10

Ce composé de Formule XII est ensuite soumis à une réaction de dé-O-silylation (étape j), par exemple dans un milieu acide ou en présence de SiO₂, pour fournir le composé de la présente invention de Formule Ic porteur d'un groupe N³-hydroxyuréido terminal, à savoir le composé de la présente invention de Formule I dans lequel R³ est un atome d'hydrogène et R⁴ est un groupe -OH.

15

Le composé de Formule Ic de la présente invention peut ensuite être transformé par une réaction d'O-acylation ou d'O-carbamylation (étape k) en un composé de la présente invention de Formule Id, à savoir un composé de la présente invention de Formule I dans lequel R³ représente un atome d'hydrogène et R⁴ représente un groupe -OR⁵, comme suit.

20

Le composé de Formule Ic de la présente invention peut être soumis à une réaction d'O-acylation conventionnelle, par exemple avec un agent acylant conventionnel de formule générale X-CO-R⁶ (où R⁶ est un groupe alkyle en C₁-C₆ ramifié ou non, ou un groupe aryle éventuellement substitué, X pouvant être par exemple un atome d'halogène ou un groupe R⁶COO-, sans que X soit limité à ceux-ci) pour conduire au composé monoacylé de Formule Id de la présente invention dans lequel R⁵ est un groupe acyle en C₂-C₇ ou un groupe arylcarbonyle éventuellement substitué.

30

Le composé de Formule Ic de la présente invention peut également être soumis à une réaction d'O-carbamylation conventionnelle, par exemple avec un agent de carbamylation conventionnel de formule générale X-CO-NH-R⁷ (où R⁷ est un groupe alkyle en C₁-C₆, ramifié ou non, un groupe aralkyle en C₁-C₆ éventuellement substitué sur l'aryle et dont le groupe alkyle peut être ramifié ou non, ou un groupe hétéroaryle,

35

X pouvant être par exemple un halogène, sans que X soit limité à ceux-ci) pour conduire au composé de la présente invention de Formule Id dans lequel R⁵ est un groupe alkyl(en C₁-C₆) aminocarbonyle, un groupe aralkyl(en C₁-C₆)aminocarbonyle éventuellement substitué sur l'aryle, ou un groupe hétéroarylamino-carbonyle, plus
5 lipophile que son précurseur Ic et dans lequel le groupe N-OH est protégé contre l'oxydation.

Les composés de la présente invention peuvent en outre être transformés de manière conventionnelle en sels pharmaceutiquement acceptables de ceux-ci.

10 Afin de démontrer l'efficacité des composés de la présente invention comme agents antiviraux, et notamment comme agent anti-VIH-1, des tests *in vitro* ont été effectués selon le principe et le mode opératoire suivants.

15 Principe

Le criblage a pour but d'évaluer l'activité antirétrovirale des composés de la présente invention et des composés comparatifs sur la souche VIH-1 la cultivée sur cellules mononuclées du sang périphérique (CMSP).

20 Pour cela, les composés à tester ont été incubés pendant sept jours (durée du test anti-VIH) avec les CMSP en phase exponentielle de croissance.

La capacité des composés à inhiber la réplication virale a ensuite été mesurée dans
25 les surnageants de culture soit par dosage de l'activité "Reverse Transcriptase" (RT) à l'aide de la trousse RetroSys TR (INNOVAGEN) soit par dosage de la protéine P24 à l'aide de la trousse Innotest HIV Antigen mAb Screening (IMMUNOGENETICS).

Les concentrations du composé testé permettant d'inhiber de 50 et 90 % la
30 réplication virale ont été déterminées. Il s'agit respectivement des concentrations d'inhibition CI₅₀ et CI₉₀.

Parallèlement au criblage, et dans les mêmes conditions, un test de cytotoxicité des composés à tester a été effectué.

Ce test a été révélé par le MTT (bromure de 3-[4,5-diméthylthiazol-2-yl]-2,5-diphenyltetrazolium) après 7 jours de culture [J.G. Park et col., *Cancer Res.* 47(22), 5875-5879 (1987)].

- 5 Ce test a permis de déterminer la concentration de produit qui diminue de 50 % la croissance et la viabilité des CMSP (CC_{50}).

L'indice thérapeutique (IT) du composé a été calculé comme suit : $IT_{50} = (CC_{50}/CI_{50})$.

10 Mode opératoire

Les CMSP ont été isolées comme décrit dans Ulmer et col., *Immunobiology*, 166(3), 238-250 (1984) à partir d'un donneur sain par un gradient de Ficoll (Nicomed Pharma AS).

- 15 Les CMSP ont été activées par la phytohéماغglutinine pendant trois jours puis cultivées dans une plaque de 96 puits, dans du milieu de base (RPMI) supplémenté par de l'interleukine-2 humaine recombinante.

- 20 Tout au long de la culture, les cellules ont été maintenues à 37°C, en atmosphère saturée en humidité, et sous 5 % de CO₂.

Les CMSP ont été pré-traitées une heure en présence des composés à tester à différentes concentrations, puis infectées avec 100 TCID₅₀ de VIH-1-Lai

- 25 [S. Wain-Hobson et col., *Science* 17, 252 (5008) : 961-965 (1991)].

Trois jours après l'infection par le VIH-1, la moitié du milieu de culture a été renouvelée et au jour 7, les surnageants ont été prélevés et congelés à -20°C.

- 30 La réplication virale a ensuite été mesurée :

a) en dosant l'activité "Reverse Transcriptase" (RT) dans les surnageants de culture au moyen de la trousse RetroSys (Innovagen).

- 35 La RT contenue dans le surnageant synthétise, en présence de bromodésoxyuridine triphosphate (BrdUTP), un brin d'ADN complémentaire à une matrice fixée au fond des puits d'une plaque 96 puits. L'incorporation de BrdU est quantifiée par la fixation d'un anticorps anti-BrdU conjugué à la phosphatase alcaline. L'activité de la

phosphatase alcaline liée, mesurée par colorimétrie, est proportionnelle à l'activité de la RT dans le surnageant de culture.

b) en dosant la protéine P24 dans les surnageants de culture au moyen de la trousse

5 Innotest HIV Antigen mAb Screening (IMMUNOGENETICS).

La P24 des surnageants se lie à des anticorps polyclonaux anti-VIH fixés au fond des puits d'une plaque 96 puits. Un anticorps secondaire biotinylé anti-P24 se fixe à la P24. Ensuite, la biotine fixe la streptavidine dont l'activité, mesurée par colorimétrie, est proportionnelle à la quantité de P24 présente dans le surnageant de culture.

10 Les résultats présentés résultent d'au moins deux expérimentations distinctes et réalisées en triplicat.

Composés de l'invention testés :

15 Composé 1 : 1-(3-N³-hydroxyuréidopropyloxyméthyl)-6-(3,5-diméthylbenzyl)-5-éthyluracile

Composé 2 : 1-(3-N¹-hydroxyuréidopropyloxyméthyl)-6-(3,5-diméthylbenzyl)-5-éthyluracile

20 Composé 3 : 1-(3-N¹-hydroxyuréidopropyloxyméthyl)-6-(3,5-diméthylbenzyl)-5-isopropyluracile

Composé 4 : 1-(3-N¹-acétoxyuréidopropyloxyméthyl)-6-(3,5-diméthylbenzyl)-5-isopropyluracile.

25 Composé 5 : 1-(3-N¹-pivaloyloxyuréidopropyloxyméthyl)-6-(3,5-diméthylbenzyl)-5-isopropyluracile.

Composés comparatifs testés :

30 Composé Comp. 1 : 1-(2-N¹-hydroxyuréidoéthylloxyméthyl)-6-(3,5-diméthylbenzyl)-5-éthyluracile

Composé Comp. 2 : 1-(4-N¹-hydroxyuréidobutyloxyméthyl)-6-(3,5-diméthylbenzyl)-5-éthyluracile

Composé Comp. 3 : 1-(2-N¹-hydroxyuréidoéthylloxyméthyl)-6-benzyl-5-éthyluracile
(Composé de Formule C)

35 Composé Comp. 4 : 1-éthylloxyméthyl-6-benzyl-5-isopropyluracile.
(Composé de Formule A)

Les composés Nos. 1, 2, 3, 4 et 5 de la présente invention et les composés comparatifs Comp. 1, Comp. 2 et Comp. 3 testés ont été synthétisés comme indiqué dans les Exemples et le composé comparatif Comp. 4 a été synthétisé comme décrit dans la littérature [M. Baba, H. Tanaka, T. Miyasaka, S. Yuseda, M. Ubasawa, R.T. Walker & E. De Clerq, *Nucleosides Nucleotides*, 14, 575-583 (1995)].

Résultats des tests

- 10 Les résultats des tests résultant des dosages de l'activité "Reverse transcriptase" et de la protéine P24 avec les Composés Nos. 2 et 3 de la présente invention et le composé comparatif Comp. 1 sont présentés sur les antivirogrammes représentés sur la Figure.
- 15 Ces résultats montrent clairement que les composés testés inhibent de manière parallèle la production de deux marqueurs viraux distincts, à savoir la transcriptase inverse et la protéine P24.

Ces composés sont donc des inhibiteurs de la replication du virus VIH-1.

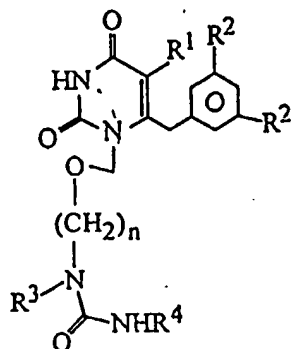
- 20 Les résultats des tests résultant du dosage de l'activité "Reverse Transcriptase" (RT) sont reportés sur le Tableau 1 ci-dessous qui montre les concentrations d'inhibition à 50% (CI₅₀) et à 90% (CI₉₀) contre le VIH-Lai en nM, les concentrations cytotoxiques à 50% (CC₅₀) en nM et l'index thérapeutique IT₅₀ (CC₅₀/CI₅₀) des
- 25 Composés Nos. 1, 2, 3, 4 et 5 de la présente invention et des composés comparatifs Comp. 1, Comp. 2, Comp. 3 et Comp. 4.

30

35

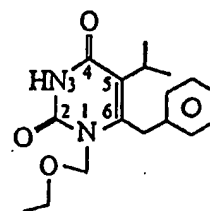
17

5



10

(I)



(A)

Tableau 1

	R ¹	R ²	n	R ³	R ⁴	Cl ₅₀ (nM)	Cl ₉₀ (nM)	CC ₅₀ (nM)	IT ₅₀
Composés de l'invention									
1	Et	Me	3	H	OH	2.3	9	2,6 x 10 ⁵	1,13 X10 ⁵
2	Et	Me	3	OH	H	0.24	1.7	>3 x 10 ⁵	>10 ⁶
3	iPr	Me	3	OH	H	3x10 ⁻⁵	3,9 10 ⁻³	2,2 x 10 ⁵	7x10 ⁹
4	iPr	Me	3	OAc	H	0,03	0,6	3x10 ⁴	10 ⁶
5	iPr	Me	3	OCCMe ₃	H	1x10 ⁻⁶		6,5x10 ⁴	6,5x10 ¹⁰
Composés Comparatifs									
Comp.1	Et	Me	2	OH	H	0,92	15	>5 x 10 ⁵	>1,1x10 ⁶
Comp 2	Et	Me	4	OH	H	2.3	30	>0,5 x 10 ⁵	>0,25 x 10 ⁵
Comp.3 (Formule C)	Et	H	2	OH	H	70		>2,5 x 10 ⁵	>3,5x10 ³
Comp. 4 (Formule A)						2		>3 x 10 ⁴	>1,5 X10 ⁴

15

Comme on peut le voir sur le Tableau 1, les composés de la présente invention se sont révélés des antiviraux très actifs contre VIH-1, en particulier le Composé No. 3 ayant la Formule I dans lequel $R^1 = -CHMe_2$, $R^2 = Me$, $R^3 = -OH$ et $R^4 = H$, c'est-à-dire le 1-(3- N^1 -hydroxyuréidopropylloxyméthyl)-6-(3,5-diméthylbenzyl)-5-isopropyluracile, pour lequel on peut remarquer une activité 100.000 fois supérieure à celle de ses congénères ou de ses concurrents, et tout particulièrement le Composé No. 5 ayant la Formule I dans lequel $R^1 = -CHMe_2$, $R^2 = Me$, $R^3 = -OOCMe_3$ et $R^4 = -H$, c'est-à-dire le 1-(3- N^1 -pivaloyloxyuréido-propylloxyméthyl)-6-(3,5-diméthylbenzyl)-5-isopropyluracile, pour lequel on peut remarquer l'activité spectaculaire et imprévisible, à savoir une activité 1.000.000 fois supérieure à celle de ses congénères ou de ses concurrents.

La présente invention fournit donc un nouveau type d'acyclonucléosides comme agent antiviral, notamment agissant comme inhibiteur non nucléosidique de la transcriptase inverse du VIH-1, atoxique, et qui peut être actif à des concentrations picomolaires, voire femtomolaires.

En outre, lors de tests effectués sur l'un des composés de la présente invention, à savoir le Composé No. 2, il a été montré que ce composé présentait une synergie avec l'AZT (3'-azido-3'-désoxythymidine), la ddl (2',3'-didésoxyinosine) et la ddC (2',3'-didésoxycytidine), ce qui laisse entendre que le composé de la présente invention en général peut avantageusement être utilisé avec au moins l'AZT, la ddl et/ou la ddC.

Ainsi, le composé de la présente invention ou un sel pharmaceutiquement acceptable de celui-ci peut être utilisé comme ingrédient actif dans une composition pharmaceutique, et il peut être utilisé soit seul, soit en mélange avec d'autres ingrédients actifs, notamment dans une composition pharmaceutique destinée à être utilisée comme médicament dans le cadre d'une polythérapie.

La présente invention fournit donc également une composition pharmaceutique contenant en tant qu'ingrédient actif au moins un composé de la présente invention ou un sel pharmaceutiquement acceptable de celui-ci.

La quantité du composé de la présente invention ou de son sel pharmaceutiquement acceptable contenue dans la composition dépendra notamment du poids, de l'âge et de l'état du patient ainsi que de l'efficacité du composé.

- 5 La composition pharmaceutique de la présente invention peut être sous une forme administrable par voie orale ou par voie systémique, et elle peut contenir tout support ou excipient pharmaceutiquement acceptable approprié.

- 10 Le composé de la présente invention contenu dans la composition pharmaceutique peut être avantageusement un composé dans lequel R^3 ou R^4 est un groupe $-OR^5$.

Dans ce cas, le composé de la présente invention est un "prodrug" qui, après administration, sera transformé dans le corps en composé de la présente invention dans lequel R^3 ou R^4 est un groupe $-OH$.

- 15 Un tel composé où R^3 ou R^4 est un groupe $-OR^5$ pourra notamment être avantageusement utilisé dans une formule retard.

- 20 Le composé de la présente invention dans lequel R^5 est un groupe acyle est particulièrement avantageux car il est plus lipophile que son précurseur et le groupe $N-OH$ est protégé contre l'oxydation. En outre, il peut être désacylé dans le sang à des vitesses contrôlables par la nature du groupe acyle.

- 25 L'utilisation de groupes R^5 ramifiés, comme par exemple le groupe pivaloyle, est également avantageuse car elle permet de retarder l'hydrolyse du groupement ester par les estérases.

- 30 Grâce à la présente invention, il a été possible d'améliorer la fixation sur le récepteur, à savoir le site allostérique de la transcriptase inverse du VIH-1, ce qui se manifeste par une concentration inhibitrice plus faible, ce qui implique une meilleure sélectivité, un coût de préparation plus faible et une propension à sélectionner des mutants résistants plus faible.

- 35 Un autre avantage des acyclonucléosides à groupement N -hydroxyuréido de la présente invention est qu'ils peuvent être détectés par Résonance Paramagnétique Electronique (RPE) après oxydation en radicaux libres aminoxyyles correspondants.

L'oxydation à l'air, éventuellement facilitée par une faible irradiation UV, conduit à une très faible concentration stationnaire d'espèces paramagnétiques qui, étant donné la grande sensibilité et de la grande sélectivité de la technique RPE, permet de suivre la molécule dans des milieux biologiques complexes.

5

Des tests de toxicité des Composés 3 et 5 de la présente invention ont encore été effectués sur des cellules de moelle osseuse selon le mode opératoire suivant.

Des cellules de moelle osseuse de souris Balb/c ont été cultivées à raison de
10 5 x 10⁵ cellules /ml dans des cultures de 1 ml dans du milieu RPMI 1640 supplémenté avec 1 mM de glutamine, 10 % de sérum de veau foetal, pénicilline et streptomycine (GIBCO, USA)

Les cellules ont été stimulées par addition de 1 ng/ml de Srem cell factor
15 (c-kit ligand), d'IL3 et de GM-CSF (Pharmingen, USA) en présence de concentrations croissantes des Composés 3 et 5 de la présente invention allant de 1 x 10⁻¹² à 1 x 10⁻⁵ M.

Après 5 jours de culture à 37°C, 5% de CO₂, les cellules ont été récupérées.

20 La prolifération a été évaluée par numération des cellules vivantes en présence de bleu Trypan.

La différenciation des cellules a été évaluée en cytométrie de flux (Facs- Calibur,
25 BECTON DICKINSON, USA) par double marquage des cellules avec des anticorps anti-CD38 couplés à la phycoérythrine (PE), anti-Gr1 couplés à la fluorescéine 5 (FI), anti Gr1-PE et anti CD11b-FI (Pharmingen, USA).

A toutes les concentrations testées, la prolifération cellulaire était identique à celle
30 observée en l'absence du Composé 3 ou 5 de la présente invention.

De même, les proportions de lymphocytes B, de myélocytes, de neutrophiles et de macrophages induites par les cytokines étaient identiques en présence ou en
absence du Composé 3 ou 5 de la présente invention, quelle que soit la
35 concentration.

Ces résultats montrent clairement que les composés de la présente invention, et en particulier les Composés 3 et 5 de la présente invention n'ont pas d'effet toxique significatif sur des cellules de moelle osseuse de souris et ne gênent pas leur différenciation in vitro même à des concentrations 1×10^6 fois supérieures à celles donnant une inhibition de la réplication du VIH dans des lymphocytes humains in vitro.

Les exemples suivants sont destinés à illustrer la présente invention. Cependant, ils ne doivent en aucun cas être considérés comme limitant l'étendue de la présente invention.

EXEMPLES

Les produits de départ, les réactifs et les solvants utilisés dans les synthèses suivantes sont tous des produits commerciaux provenant de chez Fluka (Buchs, Switzerland), Merck (Darmstadt, Germany), ou Aldrich (Buchs, Switzerland), à moins qu'autre chose ne soit spécifié.

Exemple 1

Synthèse du 1-(3-N¹-hydroxyuréidopropylloxyméthyl)-6-(3,5-diméthylbenzyl)-5-isopropyluracile (Composé No. 3 de la présente invention)
(Composé de la présente invention de Formule I, dans lequel $n=3$, R¹ est un groupe isopropyle, chaque R² est un groupe méthyle, R³ est un groupe -OH et R⁴ est un atome d'hydrogène).

A. Synthèse du 6-(3,5-diméthylbenzyl)-5-isopropyluracile

(Composé de Formule VI selon le Schéma réactionnel 1 dans lequel R¹ est un groupe isopropyle et chaque R² est un groupe méthyle)

A une solution d'acide 2-bromo-3-méthylbutanoïque (3 g, 16,5 mmoles) dans de l'éthanol (200 ml), on a ajouté de l'acide sulfurique concentré (4 ml). Après 36 h d'ébullition à reflux, le milieu réactionnel, amené à température ambiante, a été neutralisé avec une solution aqueuse saturée de carbonate de sodium. Après distillation de l'éthanol, le milieu réactionnel a été extrait par du dichlorométhane

(100 ml). La phase organique a ensuite été séchée sur du sulfate de magnésium et le solvant a été évaporé pour donner le 2-bromo-3-méthylbutanoate d'éthyle (1,91 g, 55 %).

- 5 Une suspension de poudre de zinc (31,5 g, 0,48 mole) dans du tétrahydrofurane (300 ml) a été portée à ébullition sous reflux, puis il a été ajouté quelques gouttes de 2-bromo-3-méthylbutanoate d'éthyle pour initier la réaction. Après 45 mn à reflux sous agitation magnétique, il a été ajouté du 3,5-diméthylphénylétanenitrile (13,2 g, 91 mmoles), puis goutte à goutte, le reste du 2-bromo-3-méthylbutanoate d'éthyle (au
10 total 19,1 g, 91 mmoles). L'ébullition a été maintenue pendant 15 mn, le mélange a ensuite été refroidi, puis il a été ajouté à celui-ci du tétrahydrofurane (500 ml) et une solution aqueuse de carbonate de potassium à 50 % (100 ml). Après 45 mn d'agitation vigoureuse, la phase organique a été séparée par décantation et la phase aqueuse a été lavée avec du tétrahydrofurane (2 x 100 ml). Les phases organiques
15 rassemblées ont été traitées par une solution aqueuse à 10 % d'acide chlorhydrique (300 ml) pendant 45 mn. Après élimination du tétrahydrofurane par distillation sous pression réduite, le résidu a été repris par du dichlorométhane (300 ml), et la phase organique a été lavée par une solution saturée de monohydrogénocarbonate de sodium (100 ml), séchée sur du sulfate de magnésium et concentrée. La distillation
20 du résidu (134 °C, 10^{-1} mmHg) fournissait le 3-méthyl-2-(3,5-diméthylphénylacétyl)-butanoate d'éthyle (13,2 g, 52 %).

- Du sodium métallique (23,8 g, 1.034 moles) a été mis en réaction avec de l'éthanol anhydre (500 ml). A la solution limpide obtenue, il a été ajouté de la thiourée (54,35 g,
25 714 mmoles) et du 3-méthyl-2(3,5-diméthylphénylacétyl)butanoate d'éthyle (13,14 g, 47,6 moles). Le milieu réactionnel a été maintenu à reflux pendant 6 h, puis concentré sous vide à 40,50 °C. Au résidu obtenu, il a été ajouté de l'acide chlorhydrique concentré (100 ml) puis la solution a été amenée à pH 4 par de l'acide acétique. Le 6-diméthylbenzyl-5-isopropyl-2-thiouracile obtenu a été dissous dans
30 une solution aqueuse à 10 % d'acide chloroacétique (200 ml) et la solution a été maintenue à reflux pendant 24 h puis refroidie à température ambiante et le précipité obtenu a été séparé par filtration et lavé avec de l'éthanol froid puis de l'éther, puis

séché sous vide à 40 °C pour fournir le 6-(3,5-diméthylbenzyl)-5-isopropyluracile (7 g, 54 %).

Point de fusion : 213-214 °C.

5

B. Synthèse du 1-acétoxy-3-acétoxyméthoxypropane

(Composé de Formule VII selon le Schéma réactionnel 1, dans lequel n = 3)

10 A. un mélange de 1,3-dioxane (3 ml, 0,035 mmole) et d'anhydride acétique (3.3 ml, 0,035 mmole) porté à 0 °C, il a été ajouté une goutte d'acide sulfurique concentré. Le mélange a ensuite été agité 14 h à 20 °C, additionné d'acétate de sodium (2 g) et filtré. Le résidu distillé sous vide (120 °C, 16 mmHg) fournissait le 1-acétoxy-3-acétoxyméthoxypropane (3,34 g, 50 %) sous forme d'une huile incolore.

15 ¹H-RMN (200 MHz, CDCl₃) : δ 1,90 (quint., 2H, J=6Hz, CH₂-CH₂-CH₂),
2,04 (s, 3H, OAc), 2,09 (s, 3H, OAc), 3,69 (t, 2H, J=6Hz, OCH₂-CH₂-CH₂-OAc),
4,14 (t, 2H, J=6Hz, OCH₂CH₂CH₂OAc), 5,22 (s, 2H, AcOCH₂O).

IR (KBr) : ν_{max} 2994(ν_{C-H}), 1706 et 1682(ν_{C=O}), 1225, 1074 cm⁻¹.

20 C. Synthèse du 1-(3-N¹-hydroxyuréidopropylloxyméthyl)-6-(3,5-diméthylbenzyl)-5-isopropyluracile (Composé No. 3 de la présente invention)

25 A une solution de 6-(3,5-diméthylbenzyl)-5-isopropyluracile (1,5 g, 5,5 mmoles) obtenu à l'étape A ci-dessus et de 1-acétoxy-3-acétoxyméthoxypropane (2,1 g, 11 mmoles) obtenu à l'étape B ci-dessus dans de l'éthanenitrile (60 ml), il a été ajouté de l'hexaneméthylidisilazane (1,78 g, 11 mmoles) et du chlorotriméthylsilane (1,2 g, 11 mmoles). Après 15 mn à 20 °C, il a été ajouté goutte à goutte une solution de chlorure d'étain^{IV} (2,87 g, 11 mmoles) dans de l'éthanenitrile (15 ml). Après 14 h d'agitation à 20 °C, il a été ajouté du dichlorométhane (100 ml) et une solution aqueuse saturée d'hydrogénocarbonate de sodium (50 ml). La phase organique a
30 ensuite été lavée par une solution aqueuse saturée d'hydrogénocarbonate de sodium (30 ml) puis par une solution saturée de chlorure de sodium (30 ml), et séchée sur du sulfate de magnésium, puis concentrée. Le résidu obtenu a été soumis à une chromatographie sur colonne «flash» (éther de pétrole/acétate d'éthyle 1:1,

$R_F = 0,41$) pour fournir le 1-acétoxypropyloxyméthyl)-6-(3,5-diméthylbenzyl)-5-isopropyluracile (1,73 g, 75 %) sous forme d'une huile visqueuse.

Ce dérivé acétylé (1,7 g, 4,05 mmoles) a été dissous dans du méthanol (40 ml) et il a
5 été ajouté à celui-ci de la triéthylamine (5 ml) et de l'eau (5 ml). Après 48 h d'agitation
à 20 °C, la réaction était terminée (CCM). Le milieu réactionnel a été concentré, les
restes de produits volatils ont été éliminés par coévaporation avec du toluène et le
résidu a été soumis à une chromatographie sur colonne « flash »
(dichlorométhane/méthanol 99,5 :0,5) pour fournir le 1-(3-hydroxypropyloxyméthyl)-6-
10 (3,5-diméthylbenzyl)-5-isopropyluracile (1,43 g, 93 %).

A une solution de cet alcool (1,43 g, 3,96 mmoles), de *N,O*-(diphénoxy-carbonyl)-
hydroxylamine (1,2 g, 4,36 mmoles) et de triphénylphosphine (1,25 g, 4,76 mmoles)
dans du tétrahydrofurane (30 ml), il a été ajouté goutte à goutte à 0 °C une solution
d'azodicarboxylate de diisopropyle (0,97 g, 4,76 mmoles) dans du tétrahydrofurane
15 (5 ml). Le milieu réactionnel a été concentré puis soumis à une chromatographie sur
colonne « flash » (méthanol/chloroforme 0,3:9,7) pour fournir le 6-(3,5-diméthylbenzyl)-
1-[3-(*N*-phénoxy-carbonyl-*N*-phénoxy-carbonyloxy-amino)propyloxyméthyl]-5-
isopropyluracile (1,8 g, 79 %) sous la forme d'un solide,
Point de fusion : 59 – 61 °C.

20 $^1\text{H-RMN}$ (200 MHz, CDCl_3) : δ 1,23 (d, 6H, $\text{J}=6,5\text{Hz}$, CH-Me_2),
2,03 (quint, 2H, $\text{J}=6\text{Hz}$, $\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_2$), 2,29 (s, 6H, Me_2Ph),
2,82 (sept., 1H, CHMe_2), 3,75 (t, 2H, $\text{OCH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_2\text{-N}$),
3,95 (t, 2H, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 4,09 (s, 2H, CH_2Ar), 5,12 (s, 2H, NCH_2O),
6,70 (s, 2H, $\text{H}_{\text{ortho-benzyle}}$), 6,90 (s, 1H, $\text{H}_{\text{para-benzyle}}$), 7,10-7,48 (m, 10, 2PhO),
25 8,1 (s l, 1H, NH).

IR (CH_2Cl_2) : ν_{max} 3382($\nu_{\text{N-H}}$), 3050-2870($\nu_{\text{C-H}}$), 1806, 1741, 1707 et 1682 ($\nu_{\text{C=O}}$) cm^{-1} .

Analyse élémentaire pour $\text{C}_{34}\text{H}_{37}\text{N}_3\text{O}_8$:

Calculée : C, 66,33; H, 6,06; N, 6,82.

Trouvée : C, 66,33; H, 6,12; N, 6,83.

30

Une solution de ce dernier composé (1,8 g, 3,13 mmoles) dans le méthanol saturé en
ammoniac a été agitée à 20 °C jusqu'à disparition du produit de départ (réaction
suivie par CCM). Le résidu a été soumis à une chromatographie sur colonne « flash »

(méthanol/acétate d'éthyle 1:9) pour fournir le 1-(3-*N*¹-hydroxyuréidopropoxy-méthyl)-6-(3,5-diméthylbenzyl)-5-isopropyluracile désiré (0,74 g, 60 %) sous la forme d'un solide.

Point de fusion : 88 - 90°C.

- 5 1H-RMN (200 MHz, CDCl₃) : δ 1,29 (d, 6H, J=6,5Hz, CHMe₂),
 1,89 (quint, 2H, J=6Hz, CH₂-CH₂-CH₂), 2,28 (s, 6H, Me₂Ph),
 2,88 (sept., 1H, CHMe₂), 3,62 (t, 2H, OCH₂-CH₂-CH₂-N),
 3,68 (t, 2H, NCH₂CH₂CH₂O), 4,09 (s, 2H, CH₂Ar), 5,11 (s, 2H, NCH₂O),
 6,70 (s, 2H, H_{ortho}-benzyle), 6,90 (s, 1H, H_{para}-benzyle), 9,00 et 9,87 (2 s l, 3H, NH).
 10 IR (CH₂Cl₂) : ν_{\max} 3530(ν_{O-H}), 3430, 3372 et 3190 (ν_{N-H}), 3000-2850 (ν_{C-H}),
 1681,5 ($\nu_{C=O}$) cm⁻¹.

Analyse élémentaire pour C₂₁H₃₀N₄O₅·1/2H₂O :

Calculée : C, 59,00; H, 7,31; N, 13,11.

Trouvée : C, 58,83; H, 7,15; N, 12,82.

15

Exemple 2

Synthèse du 1-(3-*N*¹-acétoxyuréidopropoxyméthyl)-6-(3,5-diméthylbenzyl)-5-isopropyluracile (Composé No. 4 de la présente invention)

20

(Composé de la présente invention de Formule I, dans lequel n=3, R¹ est un groupe isopropyle, chaque R² est un groupe méthyle, R³ est un groupe -OR⁵, où R⁵ est un groupe -CO-CH₃ et R⁴ est un atome d'hydrogène).

25

A une solution de 1-(3-*N*¹-hydroxyuréidopropoxyméthyl)-6-(3,5-diméthylbenzyl)-5-isopropyluracile obtenu dans l'Exemple 1-C ci-dessus (85 mg, 0,2 mmole) dans du dichlorométhane (3,5 ml), il a été ajouté du DMAP (4-diméthylaminopyridine) (5 mg, 0,04 mmole), de la triéthylamine (45 μ l, 0,3 mmole) et de l'anhydride acétique (25 μ l, 0,24 mmole) et le mélange a été agité pendant 3 heures à 20°C. Ensuite, il a
 30 été ajouté du dichlorométhane (5 ml) et une solution aqueuse saturée d'hydrogénocarbonate de sodium (5 ml). Le milieu réactionnel a ensuite été extrait par du dichlorométhane (50 ml) et la phase organique a été lavée par de l'eau (10 ml) puis par une solution saturée de chlorure de sodium (10 ml) et séchée (sulfate de

sodium). La phase organique a ensuite été concentrée et soumise à une chromatographie "flash" sur une colonne de gel de silice (dichlorométhane/méthanol 9 : 1) pour fournir 70 mg (75 %) du 1-(3-*N*¹-acétoxyuréidopropylloxyméthyl)-6-(3,5-diméthylbenzyl)-5-isopropyluracile désiré sous la forme d'un solide.

5 Point de fusion : 77 - 79°C.

¹H-RMN (200 MHz, CDCl₃) : δ 1,31 (d, 6H, J=7,0Hz, CHMe₂),

1,84 (quint, 2H, J=6,5Hz, CH₂-CH₂-CH₂), 2,22 (s, 3H, OAc),

2,31 (s, 6H, Me₂Ph), 2,86 (sept., 1H, CHMe₂), 3,67 (t, 2H, OCH₂-CH₂-CH₂-N),

3,75 (t, 2H, NCH₂CH₂CH₂O), 4,10 (s, 2H, CH₂Ar), 5,10 (s, 2H, NCH₂O),

10 6,72 (s, 2H, H_{ortho}-benzyle), 6,91 (s, 1H, H_{para}-benzyle), 8,65 (s l, 1H, NH).

IR (CH₂Cl₂) : ν_{max} 3531, 3420, 3372, 3195 (ν_{N-H}), 3055-2871 (ν_{C-H}), 1795 (ν_{C=O} Ac),

1784, 1683 (ν_{C=O} CON) cm⁻¹.

SM (m/z (%)) 444 (2, M⁺ - NH₂), 385 (16, M⁺ - NH₂ - AcO), 302 (1, BH⁺), 301 (7, B⁺),
287 (2, BH⁺ - Me), 286 (B⁺ - Me).

15 Analyse élémentaire pour C₂₃H₃₂N₄O₆. 1/2H₂O (469,61) :

Calculée : C, 58,83; H, 7,08; N, 11,93.

Trouvée : C, 58,92; H, 6,98; N, 11,83.

Exemple 3

20

Synthèse du 1-(3-*N*¹-pivaloyloxyuréidopropylloxyméthyl)-6-(3,5-diméthylbenzyl)-5-isopropyluracile (Composé No. 5 de la présente invention)

(Composé de la présente invention de Formule I, dans lequel n=3, R¹ est un groupe isopropyle, chaque R² est un groupe méthyle, R³ est un groupe pivaloyloxy
25 (Me₃CCOO-) et R⁴ est un atome d'hydrogène).

A une solution de 1-(3-*N*¹-hydroxyuréidopropylloxyméthyl)-6-(3,5-diméthylbenzyl)-5-isopropyluracile obtenu dans l'Exemple 1-C ci-dessus (134 mg, 0,32 mmole) dans de
30 la pyridine (1,5 ml), il a été ajouté 46 mg (0,38 mmole) de chlorure de pivaloyle. Après 14 h d'agitation à 24 °C, la pyridine a été éliminée par coévaporation avec du toluène (2 x 3ml) et le résidu a été repris par du dichlorométhane (10 ml). La phase organique a ensuite été lavée par une solution aqueuse saturée d'hydrogénocarbonate de

sodium (10 ml). La phase aqueuse a été extraite par du dichlorométhane (3 x 10 ml) et les phases organiques, rassemblées, lavées par une solution aqueuse d'hydrogénocarbonate de sodium (10 mL), une solution aqueuse saturée de chlorure de sodium (10 mL), séchées (sulfate de sodium) abandonnent par distillation du solvant 180 mg de 1-(3-*N*¹-pivaloyloxyuréidopropylloxyméthyl)-6-(3,5-diméthylbenzyl)-5-isopropyluracile brut qui a été soumis à une chromatographie "flash" sur une colonne de gel de silice (dichlorométhane/méthanol 24:1) pour fournir 127 mg (78%) du 1-(3-*N*¹-pivaloyloxyuréidopropylloxyméthyl)-6-(3,5-diméthylbenzyl)-5-isopropyluracile désiré sous forme d'un solide.

10 Point de fusion 132 - 133 °C;

R_F 0,22 (dichlorométhane/méthanol 24:1).

UV (MeOH) nm (ϵ): 210 (17500) et 268 (9420).

¹H RMN (200 MHz, CDCl₃): δ 1,27 (d, 6 H, J = 6,5 Hz, CHMe₂), 1,29 (s, 9 H, CMe₃),

1,80 (*quint.*, 2 H, J = 6 Hz, CH₂-CH₂-CH₂), 2,28 (s, 6 H, Me₂Ph),

15 2,86 (*sept*, 1 H, CHMe₂), 3,62 (t, 2 H, OCH₂CH₂CH₂N),

3,72 (t, 2 H, OCH₂CH₂CH₂N), 4,08 (s, 2 H, CH₂Ar), 5,09 (s, 2 H, NCH₂O),

6,69 (s, 2 H, H_{ortho}-benzyle), 6,89 (s, 1 H, H_{para}-benzyle), 8,66 (s *él*, 1 H NH).

¹³C RMN (50 MHz, CDCl₃): δ 20,4 (Me₂Ar), 21,3 (Me₂CH), 26,8 (NCH₂CH₂CH₂O),

27,0 (Me₃C), 28,4 (Me₂CH), 33,3 (CH₂Ar), 38,5 (Me₃C), 46,6 (NCH₂-CH₂CH₂),

20 66,4 (OCH₂CH₂CH₂N), 73,1 (NCH₂O), 119,6 (C-5), 125,0 (C_{ortho}-Ar),

128,8 (C_{para}-Ar), 135,1 (C_{ipso}-Ar), 138,8 (C_{méta}-Ar), 148,8 (C-2), 151,8 (C-6),

158,8 (CONH₂), 162,3 (C-4), et 175,7 (COCMe₃).

IR (CH₂Cl₂): ν_{max} 3535 (ν_{N-H}), 3430 et 3386 (ν_{NH_2}), 3052 (ν_{C-H} asymétrique),

1779 ($\nu_{C=O}$ ester), 1705, 1684 ($\nu_{C=O}$ CON) cm⁻¹.

25 SM m/z (%): 355 (4, B-CH₂-OCH₂CH₂CN⁺), 301 (2, B-CH₂O⁺), 285 (3, B-CH₂⁺),

273 (13, BH₂⁺), 272 (62, BH⁺), 271 (5, B⁺), 257 (100, BH⁺ - Me).

Analyse élémentaire pour C₂₆H₃₈N₄O₆ (502,62), 0,5 CH₂Cl₂:

Calculée : C, 58,39; H, 7,21; N, 10,28.

Trouvée : C, 58,14; H, 7,20; N, 10,13.

Exemple 4**Synthèse du 1-(3-*N*³-hydroxyuréidopropoxy-méthyl)-6-(3,5-diméthylbenzyl)-5-éthyluracile (Composé No. 1 de la présente invention)**

(Composé de Formule I de la présente invention dans lequel $n = 3$, R^1 est un groupe éthyle, chaque R^2 est un groupe méthyle, R^3 est un atome d'hydrogène et R^4 est un groupe OH)

A. Synthèse du 5-éthyl-1-(3-hydroxypropoxy-méthyl)-6-(3,6-diméthylbenzyle)uracile

(Composé de Formule IX selon le Schéma réactionnel 1 dans lequel R^1 est un groupe éthyle et chaque R^2 est un groupe méthyle)

A une suspension de 5-éthyl-6-(3,5-diméthylbenzyl)uracile (645 mg, 5 mmoles) (préparé comme décrit pour la préparation du 6-(3,5-diméthylbenzyl)-5-isopropyluracile dans l'Exemple 1-A ci-dessus mais en remplaçant l'acide 2-bromo-3-méthylbutanoïque par l'acide 2-bromobutanoïque) et de 1-acétoxy-3-acétoxy-méthoxypropane (préparé comme décrit dans l'Exemple 1-B ci-dessus) (950 mg, 5 mmoles) dans de l'éthanenitrile (25 ml), il a été ajouté de l'hexaméthyl-disilazane (810 mg, 5 mmoles) et du chlorotriméthylsilane (545 mg, 5 mmoles). Après 10 minutes d'agitation à 20 °C, il a été ajouté goutte à goutte, en 10 minutes, une solution de chlorure d'étain^{IV} (782 mg, 2,4 mmoles) dans de l'éthanenitrile (7 ml). Après 14 h d'agitation, il a été ajouté au milieu réactionnel, du dichlorométhane (70 ml) et une solution aqueuse saturée d'hydrogénocarbonate de sodium (70 ml). La phase organique a été séparée par décantation et la phase aqueuse a été extraite par du dichlorométhane (3 x 50 ml). Les phases organiques rassemblées ont été lavées par une solution saturée d'hydrogénocarbonate de sodium (25 ml), de l'eau (25 ml) et une solution aqueuse saturée de chlorure de sodium (25 ml). La phase organique a été séchée sur du sulfate de sodium, concentrée, et soumise à une chromatographie sur colonne «flash» de gel de silice (acétate d'éthyle/éther de pétrole 1:1) pour fournir 0,85 g (87 %) de 5-éthyl-1-(3-acétoxypropoxy-méthyl)-6-(3,5-diméthylbenzyl)uracile.

Analyse élémentaire pour $C_{21}H_{28}N_2O_5$ (388,47) :

Calculée : C, 44,93; H, 7,26; N, 7,21.

Trouvée : C, 44,76; H, 7,39; N, 7,11.

- 5 Ce dernier composé a ensuite été agité pendant 34 h dans un mélange de triéthylamine-méthanol-eau 1:8:1 (80 ml) à 20 °C pour fournir, après purification par chromatographie «flash» sur colonne de gel de silice (dichlorométhane/méthanol 19:1), 0,57 g (76 %) de 5-éthyl-1-(3-hydroxypropyloxyméthyl)-6-(3,5-diméthylbenzyl)uracile.

- 10 Analyse élémentaire pour $C_{19}H_{26}N_2O_4$ (346,43) :

Calculée : C, 65,88; H, 7,56; N, 8,09.

Trouvée : C, 65,42; H, 7,46; N, 7,94.

B. Synthèse du 1-(3- N^3 -hydroxyuréidopropyloxyméthyl)-6-(3,5-diméthylbenzyl)-

- 15 **5-éthyluracile** (Composé No. 1 de la présente invention)

- Le 5-éthyl-1-(3-hydroxypropyloxyméthyl)-6-(3,5-diméthylbenzyl)uracile obtenu à l'étape A ci-dessus (210 mg, 0,6 mmole), du phthalimide (110 mg, 0,72 mmole) et de la triphénylphosphine (0,19 g, 0,72 mmole) ont été dissous dans du tétrahydrofurane et la solution a été refroidie à 0 °C. Il a été ensuite ajouté à celle-ci goutte à goutte une solution d'azodicarboxylate d'isopropyle (145 mg, 0,72 mmole) dans du tétrahydrofurane (2 ml). Le milieu réactionnel a ensuite été concentré et soumis à une chromatographie «flash» sur colonne de gel de silice (dichlorométhane/méthanol 49:1) et le produit obtenu a été purifié par une nouvelle chromatographie «flash» sur colonne de gel de silice (acétate d'éthyle/éther de pétrole 1:1) pour fournir du 5-éthyl-6-(3,5-diméthylbenzyl)-1-(3-phthalimidopropyloxy-méthyl)uracile (0,23 g, 79 %).

- Ce dernier composé a été ensuite hydrazinolysé par 2 h d'agitation à 20 °C dans une solution éthanolique (5 ml) d'hydrate d'hydrazine (240 mg) et purifié par chromatographie sur gel de silice (dichlorométhane/méthanol/méthanol saturé d'ammoniac 8:2:0,25) pour fournir du 1-(3-aminopropyloxyméthyl)-5-éthyl-6-(3,5-diméthylbenzyl)uracile (0,10 g, 59 %).

Ce dernier composé (100 mg, 0,29 mmole), en solution dans du dichlorométhane (3 ml), a été ajouté à une solution de carbonyldiimidazole (66 mg, 0,41 mmole) dans du dichlorométhane (6 ml) dans laquelle il avait été ajouté goutte à goutte une solution d'*O*-*ter*-butyldiméthylsilylhydroxylamine (60 mg, 0,41 mmole) dans du dichlorométhane (1 ml) et qu'on avait agitée 20 mn à 20 °C. Après deux chromatographies sur colonne «flash» de gel de silice (dichlorométhane/méthanol 19:1), le produit a été *O*-désilylé et il a été obtenu 60 mg (52 %) de 1-(3-*N*³-hydroxyuréidopropoxy-méthyl)-6-(3,5-diméthylbenzyl)-5-éthyluracile désiré sous la forme d'une huile.

- 10 ¹H-RMN (200 MHz, CDCl₃, 40°C) : δ 1,07 (t, 3H, J=7,0Hz, CH₂CH₃),
 1,82 (quint, 2H, J=6Hz, CH₂-CH₂-CH₂), 2,30 (s, 6H, Me₂Ph),
 ca 2,5 (s l, 3H, NH), 2,51 (q, 2H, CH₂CH₃), 3,40 (t, 2H, NCH₂-CH₂-CH₂-O),
 3,70 (t, 2H, OCH₂CH₂CH₂N), 4,09 (s, 2H, CH₂Ar), 5,13 (s, 2H, NCH₂O),
 6,72 (s, 2H, H_{ortho}-benzyle), 6,92 (s, 1H, H_{para}-benzyle).
- 15 IR (KBr) : ν_{max} 3401(ν_{O-H}), 3291, 3186 et 3058 (ν_{N-H}), 1691 (ν_{C=O}) cm⁻¹.
- Analyse élémentaire pour C₂₀H₂₈N₄O₅.1/3H₂O :
- Calculée : C, 58,52; H, 7,04; N, 13,65.
- Trouvée : C, 58,63; H, 6,99; N, 13,44.

20 Exemple 5

Synthèse du 1-(3-*N*¹-hydroxyuréidopropoxy-méthyl)-6-(3,5-diméthylbenzyl)-5-éthyluracile (Composé No. 2 de la présente invention)

- 25 (Composé de Formule I de la présente invention dans lequel n = 3, R¹ = éthyle, R² = méthyle, R³ = OH, R⁴ = H).

A une solution de 5-éthyl-1-(3-hydroxypropoxy-méthyl)-6-(3,5-diméthylbenzyl)-uracile (préparé comme décrit dans l'Exemple 4-A ci-dessus) (190 mg,

- 30 0,548 mmole), de *N,O*-bis(phénoxy-carbonyl)hydroxylamine (165 mg, 0,603 mmole) et de triphénylphosphine (288 mg, 1,09 mmoles) dans du tétrahydrofurane (5 ml), il a été ajouté goutte à goutte à 0 °C une solution de DIAD (diisopropylazodicarboxylate) (222 mg, 1,09 mmoles) dans du tétrahydrofurane (1 ml). Le milieu réactionnel a alors été ramené à 20 °C, concentré, et soumis à une chromatographie sur colonne de gel

de silice (acétate d'éthyle/éther 1:9) puis à une chromatographie sur colonne «flash» de gel de silice (méthanol/chloroforme 3:97) pour conduire à 250 mg de composé intermédiaire 6-(3,5-diméthylbenzyl)-1-[3-(*N*-phénoxycarbonyl-*N*-phénoxycarbonyloxyamino)propyloxyméthyl]-5-éthyluracile.

5

Ce composé intermédiaire a été immédiatement dissous dans une solution méthanolique saturée d'ammoniac (5 ml) et le milieu réactionnel a été agité à 20 °C pendant 24 h. A ce moment, le composé intermédiaire avait intégralement réagi (chromatographie sur couche mince) et le milieu réactionnel, concentré, a été soumis à une chromatographie sur colonne «flash» sur gel de silice (méthanol/acétate d'éthyle 1:9) pour fournir le 1-(3-*N*¹-hydroxypropyloxyméthyl)-6-(3,5-diméthylbenzyl)-5-éthyluracile désiré (40 mg, 24 %) sous forme d'une huile visqueuse qui cristallise spontanément en quelques heures à 20 °C.

10

Point de fusion : 165-167 °C ;

15

R_F 0,37 (méthanol/acétate d'éthyle 1:9).

¹H RMN (200 MHz, CD₃OD, 40 °C) : δ 0,90 (t, 3 H, $J = 7,5$ Hz, CH₂CH₃),

1,85 (quint., 2 H, $J = 6,25$ Hz, NCH₂CH₂CH₂O), 2,25 (s, 6 H, Me₂Ph),

2,40 (q, 2 H, CH₂CH₃), 3,50 (t, 2 H, NCH₂CH₂CH₂O),

3,85 (t, 2 H, NCH₂CH₂CH₂O), 4,05 (s, 2 H, CH₂Ph), 5,07 (s, 2 H, OCH₂N),

20

6,65 (s él., 2 H, H_{ortho}-benzyle), 6,85 (s él., 1 H, H_{para}-benzyle).

IR (KBr) : 3477, 3368 et 3159 (ν_{NH} et ν_{OH}), 1695 et 1650 ($\nu_{C=O}$) cm⁻¹.

SM (m/z (%)) 359 (1, M⁺ - NH₂COH), 341 (7, M⁺ - NH₂COH - H₂O),

271 (41, M⁺ - NH₂CONOH(CH₂)₃O), 258 (78, M⁺ - NH₂CONOH(CH₂)₃OCH).

Analyse élémentaire pour C₂₀H₂₈N₄O₅.1/3H₂O :

25

Calculée : C, 58,52; H, 7,04; N, 13,64.

Trouvée : C, 58,55; H, 6,95; N, 13,49.

30

Exemple 6**Synthèse du 1-(3-*N*¹-benzoyloxyuréidopropylloxyméthyl)-6-(3,5-diméthylbenzyl)-5-isopropyluracile (Composé No. 6 de la présente invention)**

5 (Composé de Formule I de la présente invention dans lequel $n = 3$, $R^1 = \text{isopropyle}$, $R^2 = \text{méthyle}$, $R^3 = \text{benzoyloxy}$, $R^4 = \text{H}$).

A une solution de 1-(3-*N*¹-hydroxyuréidopropylloxyméthyl)-6-(3,5-diméthylbenzyl)-5-isopropyluracile obtenu dans l'Exemple 1-C ci-dessus (100 mg, 0,24 mmoles) dans
 10 de la pyridine (5 ml), il a été ajouté 30 μl (0,26 mmoles) de chlorure de benzoyle.
 Après 14 heures d'agitation à 24°C, la pyridine a été éliminée par coévaporation avec du toluène (2 x 10 ml) et le résidu purifié par chromatographie sur une colonne de gel de silice (éther de pétrole/acétone 3 : 2) pour fournir 110 mg (88 %) du
 15 1-(3-*N*¹-benzoyloxyuréidopropylloxyméthyl)-6-(3,5-diméthylbenzyl)-5-isopropyluracile désiré sous forme d'un solide.

Point de fusion : 160-161 °C ;

R_f 0,16 (éther de pétrole/acétone 3:2).

¹H RMN (200 MHz, CDCl₃) : δ 1,28 (d, 6 H, $J = 7,0$ Hz, CHMe₂), 1,92 (*quint.*, 2 H, $J = 6,0$ Hz, CH₂CH₂CH₂), 2,30 (s, 6 H, Me₂Ph), 2,84 (*sept.*, 1 H, Me₂CH),
 20 3,70 (t, 2 H, NCH₂CH₂CH₂O), 3,87 (t, 2 H, OCH₂CH₂CH₂N),
 4,08 (s, 2 H, CH₂Ar), 5,10 (s, 2 H, NCH₂O), 5,22 (*s élargi*, 2 H, NH₂),
 6,70 (s, 2 H, H_{ortho}-benzyle), 6,90 (s, 1 H, H_{para}-benzyle), 7,52 (*dt*, 2 H, $J_{ortho} = 9,0$ Hz, $J_{para} = 0,5$ Hz, H_{méta}-benzyle), 7,70 (*dt*, 1 H, $J_{meta} = 3,5$ Hz, H_{para}-benzyle),
 25 8,10 (*dd*, 2 H, H_{ortho}-benzyle), 8,98 (*s élargi*, 1 H, NH).

IR (KBr) : ν_{max} 3431, 3363, 3205 (ν_{N-H}), 3028-2871 (ν_{C-H}), 1763 ($\nu_{C=O}$ benzoyle),
 1680 ($\nu_{C=O}$ NC=O) cm⁻¹.

SM (m/z (%)) 398 (0,5, M⁺ - OBz), 355 (2, M⁺ - OBz-CONH₂), 272 (60, BH⁺), 257 (100, BH⁺-Me), 122 (86, OBz), 105 (95, Bz).

30 Analyse élémentaire pour C₂₈H₃₄N₄O₆. (522,61) :

Calculée : C, 64,35; H, 6,56; N, 10,72.

Trouvée : C, 64,26; H, 6,63; N, 10,56.

Exemple 7**Synthèse du 1-(2-*N*¹-hydroxyuréidoéthoxyméthyl)-6-(3,5-diméthylbenzyl)-5-éthyluracile (Composé comparatif Comp. 1)**

5 (Composé de Formule I comparatif dans lequel $n = 2$, $R^1 = \text{éthyle}$, $R^2 = \text{méthyle}$, $R^3 = \text{OH}$, $R^4 = \text{H}$).

A. Synthèse du 1-(2-acétoxyéthoxyméthyl)-6-(3,5-diméthylbenzyl)-5-éthyluracile

10 Du 6-(3,5-diméthylbenzyl)-5-éthyluracile (voir Exemple 4-A ci-dessus) (516 mg, 2 mmoles) et du 1-acétoxy-2-acétoxyméthoxyéthane [A. Rosowski, S. H. Kim. M. Wick, *J. Med. Chem.* (1981) **24**, 1177-81]] (704 mg, 4 mmoles) ont été mis en suspension, sous atmosphère d'azote, dans de l'acétonitrile (20 ml). On a ajouté de
15 l'HMDS (hexaméthylidisilazane) (646 mg, 4 mmoles) et du TMSCl (chlorotriméthylsilane) (435 mg, 4 mmoles) et on a agité pendant 10 mn. On a ajouté alors goutte à goutte en 10 mn, une solution de chlorure d'étain^{IV} (625 mg, 2,4 mmoles) dans de l'acétonitrile (5 ml). Après 14 h d'agitation, on a ajouté du dichlorométhane (50 ml) et une solution aqueuse saturée d'hydrogénocarbonate de sodium (50 ml). On a extrait
20 par du dichlorométhane (3 x 50 ml). Les phases organiques, rassemblées, ont été lavées par une solution aqueuse saturée d'hydrogénocarbonate de sodium (25 ml), par de l'eau (25 ml), puis par une solution aqueuse saturée de chlorure de sodium. La phase organique a été séchée (sulfate de sodium), concentrée, puis a été soumise à une chromatographie sur colonne «flash» (éther de pétrole/acétate d'éthyle 3:2) pour
25 fournir le 1-(2-acétoxyéthoxyméthyl)-6-(3,5-diméthylbenzyl)-5-éthyluracile (690 mg, 92 %) sous forme d'un solide blanc.

Point de fusion : 126,0-127,0 °C

R_f 0,28 (hexane/acétate d'éthyle 3:2).

¹H RMN (CDCl₃, 200 MHz) : δ 1,10 (t, 3 H, $J = 7,25$ Hz, CH₂CH₃), 2,08 (s, 3 H, Ac),
30 2,30 (s, 6 H, Me₂Ph), 2,69 (q, 2 H, CH₂CH₃), 3,80 (m, 2 H, AcOCH₂CH₂O),
4,08 (s, 2 H, CH₂Ph), 4,20 (m, 2 H, AcOCH₂), 5,18 (s, 2 H, OCH₂N),
6,71 (s, 2 H, H_{ortho}-benzyle), 6,90 (s, 1 H, H_{para}-benzyle), 8,25 (s él. 1 H, NH).

IR (KBr) : 3030 (ν_{C-H} arom.), 2950 (ν_{C-H} aliphatique), 1740 et 1705 ($\nu_{C=O}$) cm⁻¹.

UV (méthanol) ν_{max} (v) 266 nm (8180).

SM (m/z (%)) 374 (4, M^+), 255 (16, $M^+ - \text{AcOCH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 119 (11, $M^+ - \text{base}$),
87 (100, $\text{AcOCH}_2\text{CH}_2^+$).

Analyse élémentaire pour $\text{C}_{20}\text{H}_{26}\text{N}_2\text{O}_5$ (374,44) :

Calculée : C, 64,16; H, 7,00; N, 7,48.

5 Trouvée : C, 63,88; H, 7,10; N, 7,37.

B. Synthèse du 6-(3,5-diméthylbenzyl)-5-éthyl-1-(2-hydroxyéthoxyméthyl)uracile

Une solution de 1-(2-acétoxyéthoxyméthyl)-6-(3,5-diméthylbenzyl)-5-éthyluracile
10 (690 mg, 1,9 mmoles) dans un mélange méthanol/triéthylamine/eau 8:1:1 a été agitée
20 h à 20 °C. Les solvants ont été éliminés par évaporation sous vide puis par
coévaporation avec du toluène. Le solide obtenu, recristallisé (méthanol) fournissait
390 mg de 6-(3,5-diméthylbenzyl)-5-éthyl-1-(2-hydroxyéthoxyméthyl)uracile. Les
liqueurs-mères de cristallisation concentrées, soumises à une chromatographie sur
15 colonne «flash» sur gel de silice (dichlorométhane/méthanol 19:1) fournissaient un
échantillon supplémentaire de 80 mg. Rendement total 470 mg (77 %) d'un solide
blanc.

Point de fusion : 178,0-179,0 °C ;

R_f 0,12 (éther de pétrole/acétate d'éthyle 9:1)

20 ^1H RMN (CD_3OD , 200 MHz) : δ 1,01 (t, 3 H, $J = 7,5$ Hz, CH_2CH_3),
2,25 (s, 6 H, Me_2Ph), 2,42 (q, 2 H, CH_2CH_3), 3,60 (m, 4 H, CH_2CH_2),
4,12 (s, 2 H, CH_2Ph), 5,14 (s, 2 H, OCH_2N), 6,78 (s él. 2 H, $\text{H}_{ortho}\text{-benzyle}$),
6,90 (s él., 1 H, $\text{H}_{para}\text{-benzyle}$).

IR (KBr) : 3380 ($\nu_{\text{O-H}}$), 3020 ($\nu_{\text{C-H arom.}}$), 1708 ($\nu_{\text{C=O}}$) cm^{-1} .

25 UV (méthanol) ν_{max} (v) 207 (41500), 268 (15400).

SM (m/z (%)) : 332 (2, M^+), 258 (100, B^+).

Analyse élémentaire pour $\text{C}_{18}\text{H}_{24}\text{N}_2\text{O}_4$ (332,40) :

Calculée : C, 65,04; H, 7,28; N, 8,43.

Trouvée : C, 64,93 ; H, 7,30 ; N, 8,36).

C. Synthèse du 1-(2-*N*¹-hydroxyuréidoéthoxyméthyl)-6-(3,5-diméthylbenzyl)-5-éthyluracile (Composé comparatif Comp. 1)

A une solution de 6-(3,5-diméthylbenzyl)-5-éthyl-1-(2-hydroxyéthoxyméthyl)uracile
5 (0,2 g, 0,6 mmole), de *N,O*-bis(phénoxycarbonyl)hydroxylamine (0,18 g, 0,66 mmole)
et de triphénylphosphine (0,19 g, 0,66 mmole) dans du tétrahydrofurane (6 ml), il a
été ajouté goutte à goutte à 0 °C du DIAD (diisopropylazodicarboxylate) (145 mg,
0,71 mmole). Le milieu réactionnel, concentré, a été soumis à deux
chromatographies sur colonne «flash» de gel de silice successivement, la première
10 utilisant comme éluant le mélange dichlorométhane/méthanol 49:1 et la seconde, le
mélange acétate d'éthyle/éther de pétrole 2:3. On a obtenu ainsi du 6-(2,3-diméthyl-
benzyl)-5-éthyl-1-(2-*N,O*-bis(phénoxycarbonyl)hydroxyaminoéthoxyméthyl) uracile
(0,30 g, 85 %) dont 0,15 g (0,25 mmole) a été dissous dans une solution
méthanolique saturée d'ammoniac (10 ml) et agité 24 h à 10 °C. Le milieu réactionnel
15 concentré, soumis à une chromatographie sur colonne «flash» de gel de silice
(dichlorométhane/méthanol 19:1) fournissait une huile qui, reprise par de l'éther
fournissait le 1-(2-*N*¹-hydroxyuréidoéthoxyméthyl)-6-(3,5-diméthylbenzyl)-5-éthyl-
uracile (36,6 mg, 36 %) sous forme d'un solide blanc.

Point de fusion : 147 – 148°C

20 R_F 0,18 (dichlorométhane/méthanol 9:1)

¹H RMN (CDCl₃, 200 MHz) : δ 1,09 (t, 3 H, J = 7,5 Hz, CH₂CH₃), 2,29 (s, 6 H, Me₂Ph),
2,48 (q, 2 H, CH₂CH₃), 3,22-3,90 (m, 4 H, CH₂CH₂), 4,07 (s, 2 H, CH₂Ph),
5,10 (s, 2 H, OCH₂N), 6,70 (s, 2 H, H_{ortho}-benzyle), 6,90 (s, 1 H, H_{para}-benzyle),
9,76 (s *él.*, 1 H, NH).

25 IR (KBr) : 3498, 3235 et 3190 (ν_{OH} et ν_{NH}), 1703, 1699 et 1688 (ν_{C=O}) cm⁻¹.

SM (*m/z* (%)) 345 (1, M⁺ - NH₂CHO), 327 (6, M⁺ - NH₂COH - H₂O),
271 (100, M⁺ - NH₂CONOHCH₂CH₂O), 258 (73, B⁺).

Analyse élémentaire pour C₁₉H₂₆N₄O₅.1/2H₂O (339,45) :

Calculée : C, 57,13; H, 6,81; N, 14,03.

30 Trouvée . C, 56,85; H, 6,63; N, 13,57.

Exemple 8**Synthèse du 1-(4-*N*¹-hydroxyuréidobutyloxyméthyl)-6-(3,5-diméthylbenzyl)-5-éthyluracile (Composé comparatif Comp. 2)**

5 (Composé de Formule I comparatif dans lequel $n = 4$, $R^1 = \text{éthyle}$, $R^2 = \text{méthyle}$, $R^3 = \text{OH}$, $R^4 = \text{H}$).

A. Synthèse du benzoate de 4-hydroxybutyle

10 A une solution de 1,4-butanediol (18 ml, 0,2 mmole) dans de la pyridine (16 ml), on a ajouté lentement à 0 °C, sous atmosphère d'azote, du chlorure de benzoyle (1 ml, 0,1 mmole). Après 4 h d'agitation à 0 °C, le milieu réactionnel a été concentré et la pyridine a été éliminée par co-distillation avec du toluène. Le résidu été extrait à
15 l'éther (3 x 20 ml) et la phase organique a été séchée (sulfate de magnésium), concentrée, et soumise à une chromatographie sur colonne «flash» de gel de silice (éther de pétrole/acétate d'éthyle 3:2) pour fournir le benzoate de 4-hydroxybutyle (9,9 g, 55 %) sous forme d'une huile incolore.

R_F 0,36 (éther de pétrole/acétate d'éthyle 1:1).

20 ¹H RMN (CDCl₃, 200 MHz) : δ 1,79 (*m*, 4 H, CH₂CH₂CH₂CH₂),
3,60 (*t*, 2 H, $J = 7.0$ Hz, CH₂OH), 4,34 (*t*, 2 H, $J = 8.0$ Hz, PhCOOCH₂),
7, 45-8,02 (*m*, 5 H, Ph).

B. Synthèse du 1-(4-benzoyloxybutyloxyméthyl)-6-(3,5-diméthylbenzyl)-5-éthyluracile

25 A une solution de benzoate de 4-hydroxybutyle (1 g, 5,2 mmoles) dans du dichlorométhane (18 ml), il a été ajouté du paraformaldéhyde (100 mg, 5,2 mmoles). Dans le mélange, porté à 0 °C, on a fait barboter pendant 2 h de l'acide
30 chlorhydrique. Après ce temps, le récipient a été bouché et on a agité à 4 °C pendant 16 h. Le mélange réactionnel a été dilué par du dichlorométhane (10 ml), séché (sulfate de magnésium), puis concentré. Cette solution a été ajoutée à une suspension de 6-(3,5-diméthylbenzyl)5-éthyluracile (obtenu comme décrit dans l'Exemple 3) (400 mg, 1,55 mmoles) et de *N,O*-bis(triméthylsilyl)acétamide (1,1 ml,
35 4,4 mmoles) dans du dichlorométhane (10 ml) préalablement agitée 30 mn à 20 °C

puis additionnée d'iodure de tétrabutylammonium (20 mg, 0,05 mmole). Le mélange a été chauffé à reflux pendant 16 h puis ramené à 20 °C. Il a ensuite été versé dans une solution aqueuse saturée d'hydrogénocarbonate de sodium maintenue à 0 °C et le mélange a été agité pendant 30 mn. La phase organique, décantée, a été lavée avec une solution aqueuse saturée de chlorure de sodium (15 ml), séchée (sulfate de magnésium), concentrée et soumise à une chromatographie sur colonne «flash» de gel de silice (éther de pétrole/acétate d'éthyle 7:3) qui fournissait le 1-(4-benzoyloxybutyloxyméthyl)-6-(3,5-diméthylbenzyl)-5-éthyluracile (460 mg, 60 %) sous forme d'une huile.

10 R_F 0,71 (dichlorométhane/méthanol 19:1).

1H RMN ($CDCl_3$, 200 MHz) : δ 1,08 (t, 3 H, $J = 8,0$ Hz, CH_2CH_3),
1,78 (m, 4 H, $CH_2CH_2CH_2CH_2$), 2,29 (s, 6 H, Me_2Ph), 2,48 (q, 2 H, CH_2CH_3),
3,61 (t, 2 H, $J = 5,5$ Hz, $(CH_2)_3CH_2OCH_2$), 4,09 (s, 2 H, CH_2Ph),
4,34 (t, 2 H, $J = 6,0$ Hz, $PhCOOCH_2$), 5,11 (s, 2 H, OCH_2N),
15 6,70 (s *él.*, 2 H, H_{ortho} -benzyle), 6,91 (s, 1 H, H_{para} -benzyle),
7,40-8,09 (m, 5 H, $PhCO$), 8,38 (s *él.*, 1 H, NH).

IR (NaCl) : 3050 (ν_{C-H} arom.), 2924 (ν_{C-H} aliph), 1702 et 706 ($\nu_{C=O}$) cm^{-1} .

UV (EtOH) : ν_{max} (ν) 202 (51500), 220 (33300), 267 (15150) nm.

SM (m/z (%)) 464 (1, M^+), 270 (58, $M^+ - PhCO_2(CH_2)_4O$), 177 (15, $PhCO_2(CH_2)_4^+$),
20 105 (100, $PhCO^+$).

Analyse élémentaire pour $C_{27}H_{32}N_2O_5$ (464,57) :

Calculée : C, 69,81; H, 6,94; N, 6,03.

Trouvée : C, 69,66; H, 7,02; N, 5,92.

25 C. Synthèse du 6-(3,5-diméthylbenzyl)-5-éthyl-1-(4-hydroxybutyloxyméthyl)-uracile.

Du 1-(4-benzoyloxybutyloxyméthyl)-6-(3,5-diméthylbenzyl)-5-éthyluracile (500 mg, 1,08 mmoles) a été additionné à une solution d'hydroxyde de sodium (360 mg,

30 9 mmoles) dans du méthanol (50 ml) et le mélange a été agité à 20 °C pendant 3 h. Après neutralisation (acide chlorhydrique concentré) et concentration, le résidu a été soumis à une chromatographie sur colonne «flash» (dichlorométhane/méthanol 19:1)

qui fournissait le 6-(3,5-diméthylbenzyl)-5-éthyl-1-(4-hydroxybutyloxyméthyl)uracile (190 mg, 48 %) sous la forme d'un solide blanc.

Point de fusion : 101,4-102,8 °C ;

R_F 0,29 (dichlorométhane/méthanol 19:1).

- 5 ¹H RMN (CD₃OD, 200 MHz) : δ 1,00 (t, 3 H, J = 7,5 Hz, CH₂CH₃),
1,54 (m, 4 H, CH₂CH₂CH₂CH₂), 2,26 (s, 6 H, Me₂Ph), 2,41 (q, 2 H, CH₂CH₃),
3,52 (m, 4 H, CH₂CH₂CH₂CH₂), 4,11 (s, 2 H, CH₂Ph), 5,10 (s, 2 H, OCH₂N),
6,75 (s, 2 H, H_{ortho}-benzyle), 6,90 (s, 1 H, H_{para}-benzyle).

IR (KBr) 3395 (ν_{O-H}), 1694 et 1637 (ν_{C=O}) cm⁻¹.

- 10 UV (méthanol) : ν_{max} (ν) 270 nm (11174).

SM (m/z (%)) : 360 (1, M⁺), 271 (7, M⁺ - O(CH₂)₄OH),

258 (100, M⁺ - HO(CH₂)₄OCH₂).

Analyse élémentaire pour C₂₀H₂₈H₂O₄ (360,45) :

Calculée : C, 66,64; H, 7,83; N, 7,77.

- 15 Trouvée : C, 66,39; H, 7,87; N, 7,63.

D. Synthèse du 1-(4-N¹-hydroxyuréidobutyloxyméthyl)-6-(3,5-diméthylbenzyl)-5-éthyluracile (Composé comparatif Comp. 2)

- 20 A une solution de 6-(3,5-diméthylbenzyl)-5-éthyl-1-(4-hydroxybutyloxyméthyl)uracile (180 mg, 0,5 mmole), de N,O-bis(phénoxy-carbonyl)hydroxylamine (150 mg, 0,55 mmole) et de triphénylphosphine (262 mg, 1 mmole) dans le tétrahydrofurane (5 ml), il a été ajouté, goutte à goutte à 0 °C, une solution de DIAD (diisopropylazodicarboxylate) (202 mg, 1 mmole) dans du tétrahydrofurane (81 ml).
- 25 Le mélange réactionnel a alors été ramené à 20 °C, concentré et soumis à une chromatographie sur colonne de gel de silice (acétate d'éthyle/éther éthylique 1:9), puis à une chromatographie sur colonne «flash» (méthanol/chloroforme 3:97) pour conduire à 260 mg du composé intermédiaire 6-(3,5-diméthylbenzyl)-1-[4-(N-phénoxy-carbonyl-N-phénoxy-carbonyloxy-amino)butyloxyméthyl]-5-éthyluracile
- 30 Ce composé intermédiaire a été immédiatement dissous dans une solution méthanolique saturée d'ammoniac (5 ml) et le milieu réactionnel agité à 20 °C pendant 24 h. A ce moment, le composé intermédiaire avait intégralement réagi

(chromatographie sur couche mince) et le milieu réactionnel, concentré, a été soumis à une chromatographie sur colonne «flash» sur gel de silice (méthanol/acétate d'éthyle 1:9) pour fournir le 1-(4-N¹-hydroxyuréidobutyloxyméthyl)-6-(3,5-diméthylbenzyl)-5-éthyluracile (45 mg, 23 %) sous forme d'un solide.

5 Point de fusion : 148-150 °C,

R_F 0,40 (méthanol/acétate d'éthyle 1:9).

¹H RMN (CD₃OD, 200 MHz) : δ 1,00 (t, 3 H, J = 7,5 Hz, CH₂CH₃),

1,56 (m, 4 H, CH₂CH₂CH₂CH₂), 2,25 (s, 6 H, Me₂Ph), 2,41 (q, 2 H, CH₂CH₃),

3,42 et 3,51 (2 t, 2x2 H J = 6,25 Hz, NCH₂(CH₂)₂CH₂O et NCH₂(CH₂)₂CH₂O),

10 4,11 (s, 2 H, CH₂Ph), 5,10 (s, 2 H, OCH₂N), 6,72 (s, 2 H, H_{ortho}-benzyle),

6,90 (s, 1 H, H_{para}-benzyle).

IR (KBr) : 3485, 3356 et 3158 (ν_{NH} et ν_{OH}), 1682 et 1652 cm⁻¹ (ν_{C=O}).

SM (m/z (%)) : 373 (1,5, M⁺ - NH₂COH), 355 (20, M⁺ - NH₂COH - H₂O),

271 (40, M⁺ - NH₂CONOH(CH₂)₄O), 258 (55, BH⁺), 257 (29, B⁺).

15 Analyse élémentaire pour C₂₁H₃₀N₄O₅·H₂O (436,51) :

Calculée : C, 59,00; H, 7,30; N, 13,10.

Trouvée : C, 59,40; H, 7,28; N, 13,09.

Exemple 9

20

Synthèse du 1-(2-N¹-hydroxyuréidoéthoxyméthyl)-6-benzyl-5-éthyluracile

(Composé comparatif Comp. 3)

(Composé de Formule I comparatif dans lequel n = 2, R¹ = éthyle, R² = H, R³ = OH,

25 R⁴ = H).

A. Synthèse du 1-(2-acétoxyéthoxyméthyl)-6-benzyl-5-éthyluracile

A une suspension de 6-benzyl-5-éthyluracile (690 mg, 3 mmol), préparé comme décrit au point A de l'Exemple 1 en remplaçant l'acide 2-bromo-3-méthylbutanoïque par de l'acide 2-bromobutanoïque et le 3,5-diméthylphénylétanenitrile par du phénylétanenitrile, dans de l'HMDS (hexaméthylidisilazane) (15 ml, 75 mmoles), on a ajouté, sous couverture d'azote, du sulfate d'ammonium (15 mg). Le milieu réactionnel a été maintenu à ébullition sous reflux pendant 14 h, refroidi, puis

concentré sous vide. Le résidu a été repris, sous couverture d'azote, par du dichlorométhane anhydre (12 ml). A la solution obtenue, on a ajouté dans des conditions strictement anhydres, du 1-acétoxy-2-acétoxyméthoxyéthane [A. Rosowski, S. H. Kim. M. Wick, *J. Med. Chem.* (1981) **24**, 1177-81] (1,06 g, 6 mmoles) et du triflate de triméthylsilyle (0,57 ml, 3,3 mmoles). Après 4 h d'agitation à 20 °C, on a ajouté du dichlorométhane (12 ml). La phase organique, lavée par une solution saturée d'hydrogénocarbonate de sodium (10 ml), puis par une solution saturée de chlorure de sodium (10 ml), séchée (sulfate de magnésium) et concentrée, a été soumise successivement à une chromatographie sur colonne «flash» de gel de silice (chloroforme/éthanol 9:1) puis à une seconde chromatographie sur colonne «flash» (éther de pétrole/acétate d'éthyle 1:1) pour fournir le 1-(2-acétoxyéthoxyméthyl)-6-benzyl-5-éthyluracile (380 mg, 69 %) qui a été immédiatement soumis à l'étape suivante.

15 B. Synthèse du 6-benzyl-5-éthyl-1-(2-hydroxyéthoxyméthyl)uracile.

A une solution de 1-(2-acétoxyéthoxyméthyl)-6-benzyl-5-éthyluracile (1,74 g, 5,02 mmoles) dans du méthanol (30 ml), une solution méthanolique 1 M de méthanolate de sodium (7 ml) a été ajoutée. Après 14 h d'agitation à 20 °C, la solution a été portée à pH 4 par une solution aqueuse 1 M d'acide chlorhydrique. Le milieu réactionnel concentré, soumis à une chromatographie sur colonne de gel de silice (chloroforme/éthanol 19:1) fournissait le 6-benzyl-5-éthyl-1-(2-hydroxyéthoxyméthyl)uracile (1 g, 66 %).

Point de fusion : 120-122 °C,

25 R_F 0,25 (chloroforme/éthanol 19:1),

1H RMN (200 MHz, $CDCl_3$) : δ 0,88 (t, 3 H, $J = 7,25$ Hz, CH_2CH_3),

2,28 (q, 1 H, CH_2CH_3), 3,42 (m, 4 H, CH_2CH_2), 4,10 (s él., 2 H, CH_2Ph),

4,65 (t, 1 H, $J_{CH_2,OH} = 4,5$ Hz, CH_2OH), 5,01 (s, 2 H, OCH_2N),

7,25 (s él., 5 H, Ph), 11,45 (s él., 1 H, NH).

30 IR (KBr) 3396 (ν_{OH}), 3028 (ν_{C-H} arom.), 2832 (ν_{C-H} aliph.) 1706 cm^{-1} ($\nu_{C=O}$).

Analyse élémentaire pour $C_{16}H_{20}N_2O_4$ (304,35) :

Calculée : C, 63,14; H, 6,62; N, 9,20.

Trouvée : C, 62,94; H, 6,77; N, 9,07.

C. Synthèse du 1-(2-*N*¹-hydroxyuréidoéthoxyméthyl)-6-benzyl-5-éthyluracile
(Composé comparatif Comp. 3)

A une solution de 6-benzyl-5-éthyl-1-(2-hydroxyéthoxyméthyl)uracile (150 mg, 0,4 mmole) dans du tétrahydrofurane (3 ml), on a ajouté à 20 °C de la triphénylphosphine (126 mg, 0,48 mmole) et de la *N,O*-bis(phénoxycarbonyl)-hydroxylamine (120 mg, 0,44 mmole), puis, goutte à goutte, une solution de DIAD (diisopropylazodicarboxylate) (97 mg, 0,48 mmole) dans du tétrahydrofurane (0,5 ml). Le milieu réactionnel, concentré, a été soumis à une chromatographie sur colonne «flash» de gel de silice (chloroforme/éthanol 19:1) pour conduire à 300 mg du composé intermédiaire 6-benzyl-1-[2-(*N*-phénoxycarbonyl-*N*-phénoxycarbonyloxyamino)éthylloxyméthyl]-5-éthyluracile, qui a été immédiatement dissous dans une solution méthanolique saturée d'ammoniac (5 ml). Le milieu réactionnel a été agité 4 h à 20 °C, concentré, puis soumis à une chromatographie sur colonne «flash» de gel de silice (dichlorométhane/éthanol 9:1) pour fournir, après recristallisation (acétate d'éthyle/méthanol) le 1-(2-*N*¹-hydroxyuréidoéthoxyméthyl)-6-benzyl-5-éthyluracile (80 mg, 45 %).

Point de fusion : 276-277 °C,

*R*_F 0,25 (dichlorométhane/méthanol 9:1).

¹H RMN (200 MHz, (CD₃)₂SO, 80 °C) : δ 0,89 (*t*, 3 H, *J* = 7,3 Hz, CH₂CH₃), 2,30 (*q*, 2 H, CH₂CH₃), 3,47 (*t*, 2 H, *J* = 6,0 Hz, NCH₂CH₂), 3,59 (*t*, 2 H, CH₂CH₂O), 4,10 (*s él.*, 2 H, CH₂Ph), 5,03 (*s*, 2 H, OCH₂N), 6,00 (*s*, 2 H, NH₂), 7,22 (*s él.*, 5 H, Ph), 9,13 (*s*, 1 H, NOH), 11,16 (*s él.*, 1 H, NH).

IR (KBr) : 3475 et 3341 (*ν*_{NH} et *ν*_{OH}), 1706 cm⁻¹ (*ν*_{C=O}).

SM (*m/z* (%)) 317 (3, M⁺ - NH₂COH), 299 (6, M⁺ - NH₂COH - H₂O),

243 (94, M⁺ - NH₂CONOH(CH₂)₂O), 230 (100, M⁺ - NH₂CONOH(CH₂)₂OCH).

UV [MeOH, *ν*_{max} (*ν*)] : 205 (21210), 269 (11200) nm.

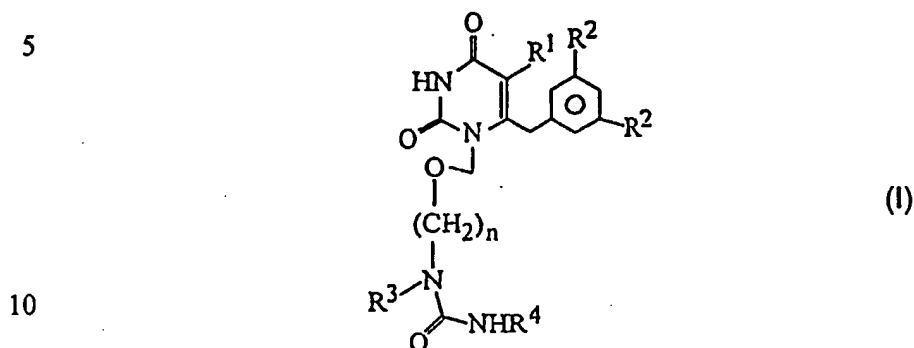
Analyse élémentaire pour C₁₇H₂₂N₄O₅ (362,39) :

Calculée : C, 56,35; H, 6,12; N, 15,46.

Trouvée : C, 55,89; H, 6,07; N, 15,20.

REVENDICATIONS

1. Composé ayant la formule générale I suivante :



dans laquelle :

- n est égal à 3;
- 15 - R¹ représente un groupe éthyle ou un groupe isopropyle;
- chacun des groupes R² représente indépendamment l'un de l'autre un atome d'hydrogène, un groupe alkyle en C₁-C₃ ou un atome d'halogène;
- l'un des groupes R³ et R⁴ représente un atome d'hydrogène alors que l'autre des groupes R³ et R⁴ représente un groupe -OH ou -OR⁵, où R⁵ peut être un groupe
- 20 acyle en C₂-C₇, un groupe alkyl(en C₁-C₆)aminocarbonyle, un groupe aralkyl(C₁-C₆)aminocarbonyle éventuellement substitué sur l'aryle, un groupe arylcarbonyle éventuellement substitué ou un groupe hétéroarylamino-
- carbonyle; ou un sel pharmaceutiquement acceptable de celui-ci.

25 2. Composé selon la revendication 1, dans lequel R¹ représente un groupe isopropyle.

3. Composé selon la revendication 1 ou 2, dans lequel chaque R² représente un groupe méthyle.

30 4. Composé selon l'une quelconque des revendications 1 à 3, dans lequel R³ représente un groupe -OR⁵ et R⁴ représente un atome d'hydrogène.

35 5. Composé selon l'une quelconque des revendications 1 à 3, dans lequel R³ représente un groupe -OH et R⁴ représente un atome d'hydrogène.

6. Composé selon l'une quelconque des revendications 1 à 4, dans lequel R⁵ représente un groupe acyle.

7. Composé selon la revendication 4, dans lequel R⁵ représente un groupe pivaloylé.

8. Composé selon la revendication 1, qui est le 1-(3-*N*¹-hydroxyuréido-propyloxyméthyl)-6-(3,5-diméthylbenzyl)-5-isopropyluracile.

9. Composé selon la revendication 1, qui est le 1-(3-*N*¹-acétoxyuréido-propyloxyméthyl)-6-(3,5-diméthylbenzyl)-5-isopropyluracile.

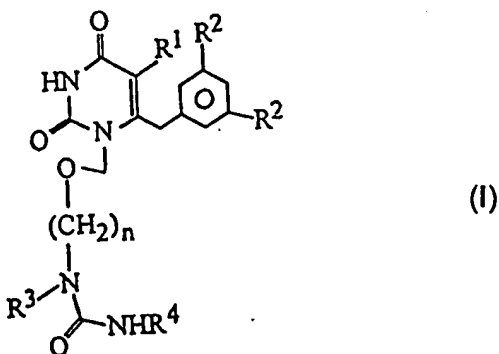
10. Composé selon la revendication 1, qui est le 1-(3-*N*¹-pivaloyloxyuréido-propyloxyméthyl)-6-(3,5-diméthylbenzyl)-5-isopropyluracile.

11. Composé selon l'une quelconque des revendications 1 à 10, pour utilisation comme médicament.

12. Composé selon l'une quelconque des revendications 1 à 10, pour utilisation comme agent antiviral.

13. Composé selon la revendication 12, pour utilisation comme agent anti-HIV-1.

14. Procédé de préparation d'un composé de formule générale I suivante :

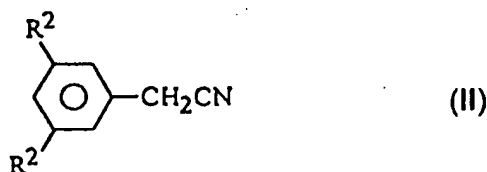


dans laquelle :

- n est égal à 3;

- R¹ représente un groupe éthyle ou isopropyle;
- chacun des groupes R² représente indépendamment l'un de l'autre un atome d'hydrogène, un groupe alkyle en C₁-C₃ ou un atome d'halogène;
- l'un des groupes R³ et R⁴ représente un atome d'hydrogène alors que l'autre des groupes R³ et R⁴ représente un groupe -OH ou -OR⁵, où R⁵ peut être un groupe acyle en C₂-C₇, un groupe alkyl(en C₁-C₆)aminocarbonyle, un groupe aralkyl(C₁-C₆)aminocarbonyle éventuellement substitué sur l'aryle, un groupe arylcarbonyle éventuellement substitué ou un groupe hétéroarylamino-carbonyle; qui comprend les étapes consistant à :

10 a) faire réagir un composé de formule II suivante :

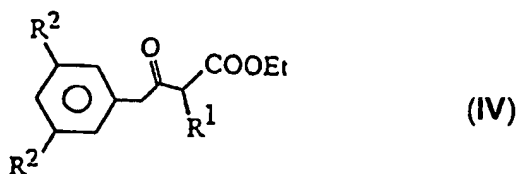


15

dans laquelle R² est comme défini ci-dessus, avec un composé de Formule III suivante :



20 dans laquelle R¹ est comme défini ci-dessus, en présence de Zn, pour obtenir un composé de Formule IV suivante :



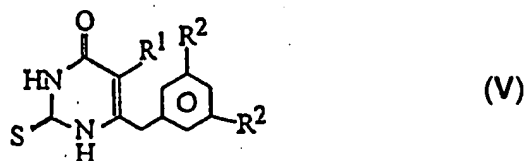
25

dans laquelle R¹ et R² sont comme définis ci-dessus;

b) faire réagir le composé de Formule IV obtenu dans l'étape a) ci-dessus avec de la thiourée dans un milieu alcoolique basique pour obtenir un thiouracile de

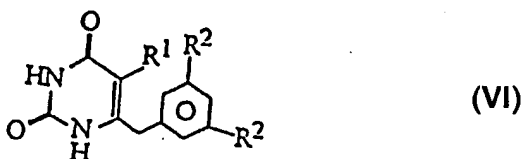
30 Formule V suivante :

45



dans laquelle R^1 et R^2 sont tels que définis ci-dessus;

c) faire réagir le thiouracile de Formule V obtenu à l'étape b) ci-dessus avec un acide organique pour obtenir un composé de Formule VI suivante:

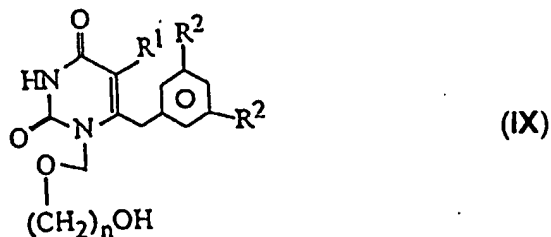


dans laquelle R^1 et R^2 sont tels que définis ci-dessus;

d) effectuer une réaction de glycosidation du composé de Formule VI obtenu à l'étape c) ci-dessus avec un composé de Formule VII suivante



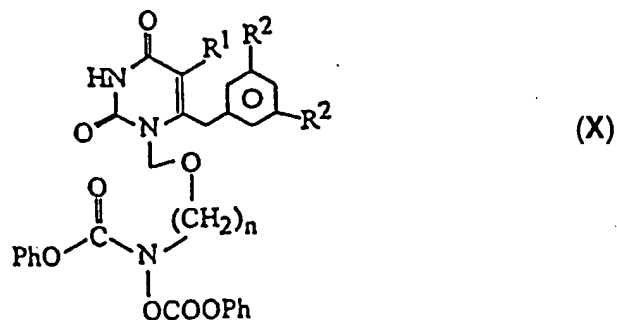
dans laquelle n est égal à 3, pour obtenir un ester, puis solvolysier l'ester pour fournir l'alcool de Formule IX suivante :



dans laquelle n , R^1 et R^2 sont tels que définis ci-dessus; et

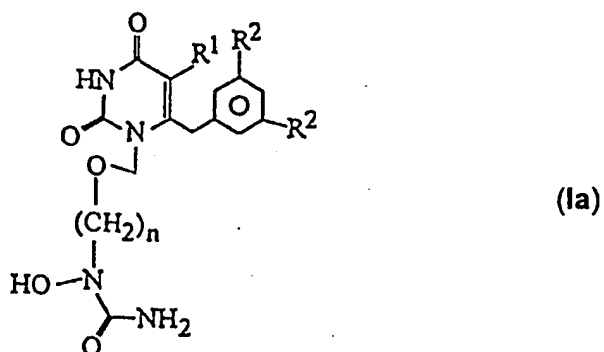
e) soumettre l'alcool de Formule IX obtenu dans l'étape d) ci-dessus à une réaction de Mitsunobu en utilisant la *N,O*-bis(phénoxycarbonyl)hydroxylamine comme nucléophile pour fournir le composé de Formule X suivante :

46



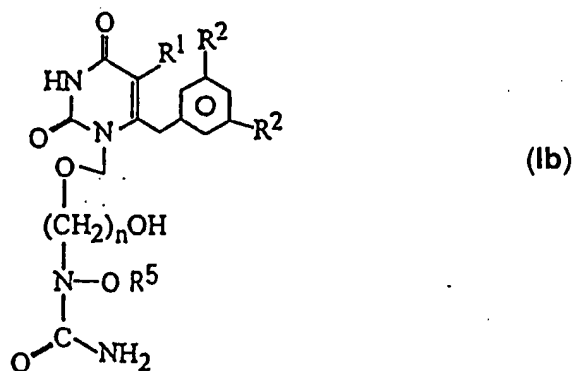
dans laquelle n , R^1 et R^2 sont tels que définis ci-dessus;

- f) soumettre le composé de Formule X obtenu à l'étape e) ci-dessus à une aminolyse, pour fournir le composé de la présente invention de Formule Ia suivante :
- 10



- 20 dans laquelle n , R^1 et R^2 sont comme définis ci-dessus; et

g) si nécessaire, protéger le groupe -OH du composé de Formule Ia obtenu dans l'étape f) ci-dessus avec un groupe R^5 par une réaction d'O-acylation ou par une réaction d'O-carbamylaton pour obtenir le composé de la présente invention de Formule Ib suivante :



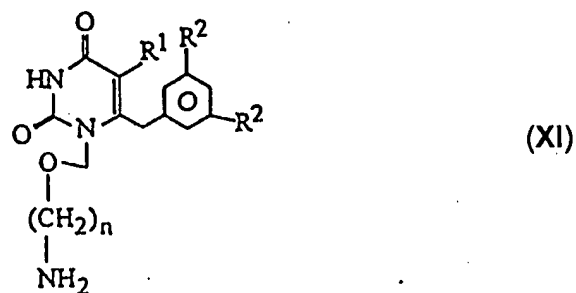
10

dans laquelle n , R^1 , R^2 et R^5 sont comme définis ci-dessus;

ou

h) soumettre l'alcool de Formule IX obtenu à l'étape c) ci-dessus à une
 15 réaction de Mitsunobu en utilisant le phthalimide comme nucléophile pour conduire à
 l'amine de Formule XI suivante :

20

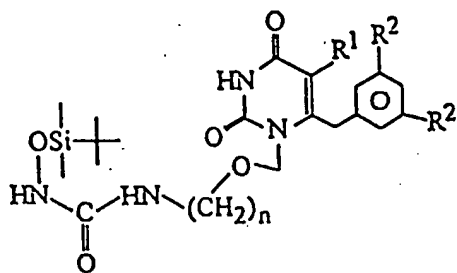


25 dans laquelle n , R^1 et R^2 sont comme définis ci-dessus,

i) traiter l'amine de Formule XI obtenue à l'étape h) ci-dessus avec du
 carbonyldiimidazole et de la O-tertbutyldiméthylsilylhydroxylamine pour fournir le
 composé de Formule XII suivante :

48

5

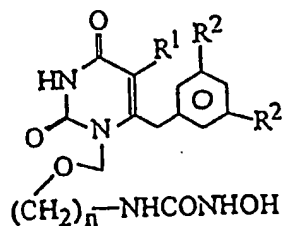


(XII)

10 dans laquelle n , R^1 et R^2 sont définis comme ci-dessus;

j) désilyler le composé de Formule XII obtenu à l'étape i) ci-dessus pour obtenir le composé de Formule Ic suivante :

15

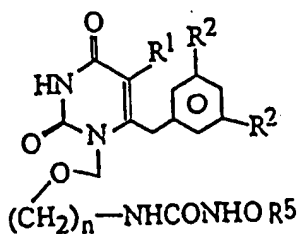


(Ic)

20 dans laquelle n , R^1 et R^2 sont comme définis ci-dessus;

k) si nécessaire, protéger le groupe -OH du composé de Formule Ic obtenu dans l'étape j) ci-dessus avec un groupe R^5 par une réaction d'O-acylation ou par une réaction d'O-carbamylation pour obtenir le composé de Formule Id suivante :

25



(Id)

30

dans laquelle n , R^1 , R^2 et R^5 sont comme définis ci-dessus.

15. Composition pharmaceutique contenant en tant qu'ingrédient actif au moins un composé selon l'une quelconque des revendications 1 à 10 ou un sel pharmaceutiquement acceptable de celui-ci.

5

16. Composition pharmaceutique contenant une quantité efficace comme antiviral dudit composé selon l'une quelconque des revendications 1 à 10 ou un sel pharmaceutiquement acceptable de celui-ci.

10

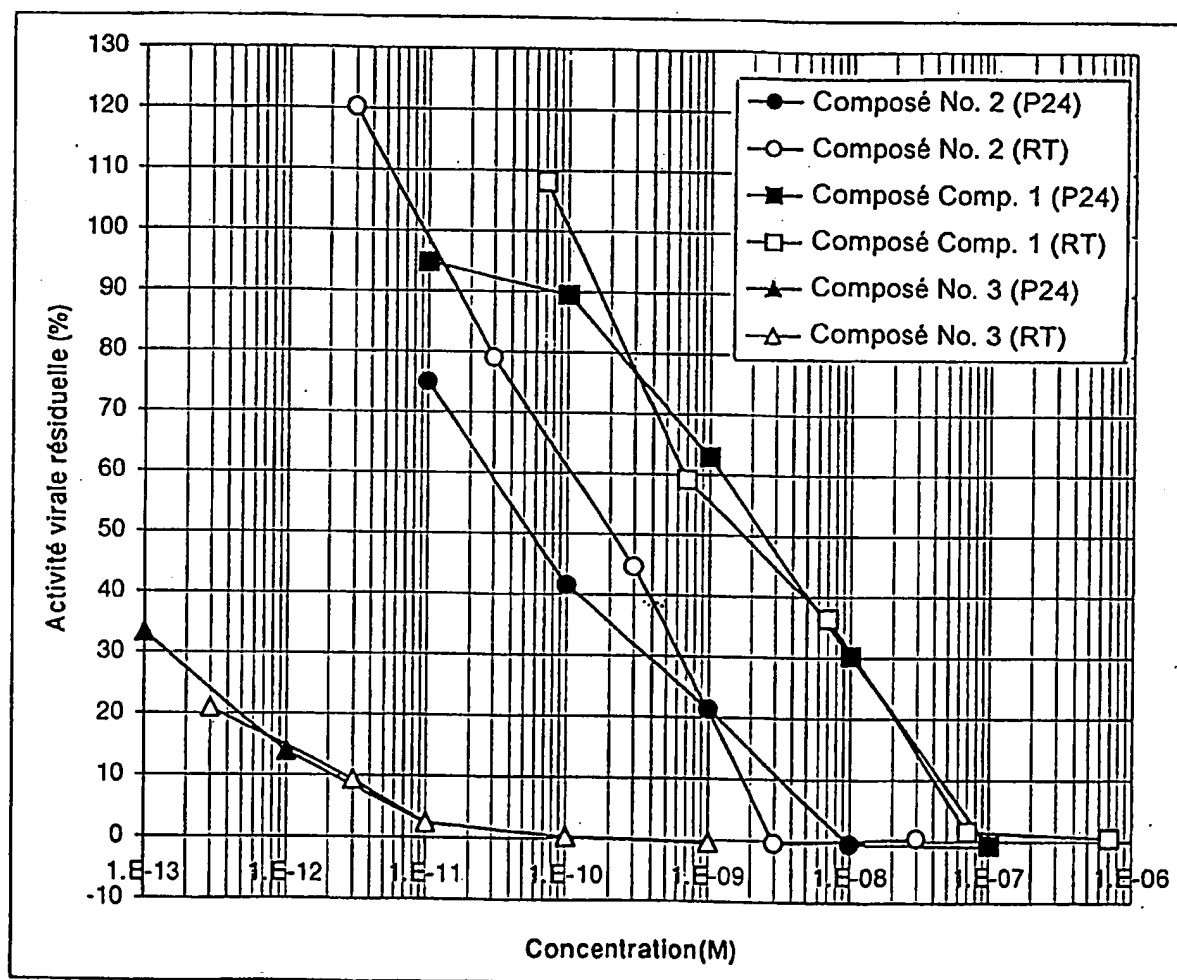
17. Composition pharmaceutique selon la revendication 15 ou 16, pour utilisation comme médicament anti-VIH-1.

15

18. Utilisation d'un composé selon l'une quelconque des revendications 1 à 10, ou d'un sel pharmaceutiquement acceptable de celui-ci, pour la fabrication d'un médicament anti-VIH-1.

FIGURE

Antivirogrammes de trois acyclonucléosides réalisés sur deux marqueurs viraux distincts Transcriptase inverse et P24 sur VIH-1 lai



INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No
PCT/EP 02/00839

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
IPC 7 C07D239/54 A61K31/505

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

IPC 7 C07D A61K A61P

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)

EPO-Internal, CHEM ABS Data, WPI Data, PAJ, BIOSIS

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	EP 0 420 763 A (MITSUBISHI CHEM IND) 3 April 1991 (1991-04-03) cited in the application examples 397,24,242-245 ---	1-18
Y	EP 0 631 783 A (MITSUBISHI CHEM IND) 4 January 1995 (1995-01-04) cited in the application the whole document --- -/--	1-18

☒ Further documents are listed in the continuation of box C.

☒ Patent family members are listed in annex.

* Special categories of cited documents:

- *A* document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
- *E* earlier document but published on or after the international filing date
- *L* document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
- *O* document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
- *P* document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

- *T* later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
- *X* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
- *Y* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art.
- *&* document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

27 June 2002

Date of mailing of the international search report

04/07/2002

Name and mailing address of the ISA

European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,
Fax: (+31-70) 340-3016

Authorized officer

Frelon, D

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

In International Application No

PCT/EP 02/00839

C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	<p>DATABASE CHEMABS 'Online! CHEMICAL ABSTRACTS SERVICE, COLUMBUS, OHIO, US; TRONCHET, JEAN M. J. ET AL: "Antiviral nucleoside N-hydroxyureas and carbamates" retrieved from STN Database accession no. 127:346601 XP002172470 * abrégé; composé RN:198208-92-3 * & CARBOHYDR. LETT. (1997), 2(5), 313-320,</p> <p>cited in the application</p>	1-18
Y	<p>PONTIKIS, RENEE ET AL: "Synthesis and Anti-HIV Activity of Novel N-1 Side Chain-Modified Analogs of 1-[(2-Hydroxyethoxy)methyl]-6-(phenylthio) thymine (HEPT)" J. MED. CHEM. (1997), 40(12), 1845 -1854, XP002172467 examples 11,16,20; table 1</p>	1-18
A	<p>TRONCHET JMJ GRIGOROV M DOLATSHAHI N MORIAUD F WEBER J: "A QSAR study confirming the heterogeneity of the HEPT derivative series regarding their interaction with HIV reverse transcriptase" EUROPEAN JOURNAL OF MEDICINAL CHEMISTRY.CHIMICA THERAPEUTICA,FR,EDITIONS SCIENTIFIQUE ELSEVIER, PARIS, vol. 32, no. 4, 1997, pages 279-299, XP004086652 ISSN: 0223-5234 cited in the application example 43</p>	1-18
A	<p>LUCO, JUAN M. ET AL: "QSAR Based on Multiple Linear Regression and PLS Methods for the Anti-HIV Activity of a Large Group of HEPT Derivatives" J. CHEM. INF. COMPUT. SCI. (1997), 37(2), 392 -401, XP002172468 the whole document</p>	1-18
A	<p>JALALI-HERAVI, M. ET AL: "Use of Artificial Neural Networks in a QSAR Study of Anti-HIV Activity for a Large Group of HEPT Derivatives" J. CHEM. INF. COMPUT. SCI. (2000), 40(1), 147 -154, XP002172469 the whole document</p>	1-18

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International Application No

PCT/EP 02/00839

Patent document cited in search report		Publication date	Patent family member(s)	Publication date
EP 0420763	A	03-04-1991	AT 182587 T	15-08-1999
			AU 642906 B2	04-11-1993
			AU 6326290 A	11-04-1991
			CA 2026226 A1	30-03-1991
			DD 299297 A5	09-04-1992
			DE 69033223 D1	02-09-1999
			DE 69033223 T2	23-12-1999
			DK 420763 T3	06-03-2000
			EP 0420763 A2	03-04-1991
			EP 0829476 A2	18-03-1998
			ES 2134758 T3	16-10-1999
			GR 3031231 T3	31-12-1999
			HU 55006 A2	29-04-1991
			KR 155168 B1	16-11-1998
			US 5461060 A	24-10-1995
			JP 2017110 C	19-02-1996
			JP 3279366 A	10-12-1991
			JP 7051567 B	05-06-1995
			ZA 9007701 A	31-07-1991
EP 0631783	A	04-01-1995	CA 2125054 A1	04-12-1994
			EP 0631783 A1	04-01-1995
			JP 7097324 A	11-04-1995
			US 5604209 A	18-02-1997

RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

1^{re} Internationale No
PCT/EP 02/00839

A. CLASSEMENT DE L'OBJET DE LA DEMANDE
CIB 7 C07D239/54 A61K31/505

Selon la classification internationale des brevets (CIB) ou à la fois selon la classification nationale et la CIB

B. DOMAINES SUR LESQUELS LA RECHERCHE A PORTE

Documentation minimale consultée (système de classification suivi des symboles de classement)

CIB 7 C07D A61K A61P

Documentation consultée autre que la documentation minimale dans la mesure où ces documents relèvent des domaines sur lesquels a porté la recherche

Base de données électronique consultée au cours de la recherche internationale (nom de la base de données, et si réalisable, termes de recherche utilisés)

EPO-Internal, CHEM ABS Data, WPI Data, PAJ, BIOSIS

C. DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS

Catégorie *	Identification des documents cités, avec, le cas échéant, l'indication des passages pertinents	no. des revendications visées
Y	EP 0 420 763 A (MITSUBISHI CHEM IND) 3 avril 1991 (1991-04-03) cité dans la demande exemples 397,24,242-245	1-18
Y	EP 0 631 783 A (MITSUBISHI CHEM IND) 4 janvier 1995 (1995-01-04) cité dans la demande le document en entier	1-18
	-/--	

☒ Voir la suite du cadre C pour la fin de la liste des documents

☒ Les documents de familles de brevets sont indiqués en annexe

* Catégories spéciales de documents cités:

- *A* document définissant l'état général de la technique, non considéré comme particulièrement pertinent
- *E* document antérieur, mais publié à la date de dépôt international ou après cette date
- *L* document pouvant jeter un doute sur une revendication de priorité ou cité pour déterminer la date de publication d'une autre citation ou pour une raison spéciale (telle qu'indiquée)
- *O* document se référant à une divulgation orale, à un usage, à une exposition ou tous autres moyens
- *P* document publié avant la date de dépôt international, mais postérieurement à la date de priorité revendiquée

- *T* document ultérieur publié après la date de dépôt international ou la date de priorité et n'appartenant pas à l'état de la technique pertinent, mais cité pour comprendre le principe ou la théorie constituant la base de l'invention
- *X* document particulièrement pertinent; l'invention revendiquée ne peut être considérée comme nouvelle ou comme impliquant une activité inventive par rapport au document considéré isolément
- *Y* document particulièrement pertinent; l'invention revendiquée ne peut être considérée comme impliquant une activité inventive lorsque le document est associé à un ou plusieurs autres documents de même nature, cette combinaison étant évidente pour une personne du métier
- *&* document qui fait partie de la même famille de brevets

Date à laquelle la recherche internationale a été effectivement achevée

27 juin 2002

Date d'expédition du présent rapport de recherche internationale

04/07/2002

Nom et adresse postale de l'administration chargée de la recherche internationale
Office Européen des Brevets, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,
Fax (+31-70) 340-3016

Fonctionnaire autorisé

Frelon, D

RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

De de Internationale No
PCT/EP 02/00839

C.(suite) DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS		
Catégorie	Identification des documents cités, avec, le cas échéant, l'indication des passages pertinents	no. des revendications visées
Y	<p>DATABASE CHEMABS 'en ligne! CHEMICAL ABSTRACTS SERVICE, COLUMBUS, OHIO, US; TRONCHET, JEAN M. J. ET AL: "Antiviral nucleoside N-hydroxyureas and carbamates" retrieved from STN Database accession no. 127:346601 XP002172470 * abrégé; composé RN:198208-92-3 * & CARBOHYDR. LETT. (1997), 2(5), 313-320,</p> <p>cité dans la demande</p> <p style="text-align: center;">---</p>	1-18
Y	<p>PONTIKIS, RENEE ET AL: "Synthesis and Anti-HIV Activity of Novel N-1 Side Chain-Modified Analogs of 1-(2-Hydroxyethoxy)methyl-6-(phenylthio) thymine (HEPT)" J. MED. CHEM. (1997), 40(12), 1845 -1854, XP002172467 exemples 11,16,20; tableau 1</p> <p style="text-align: center;">---</p>	1-18
A	<p>TRONCHET JMJ GRIGOROV M DOLATSHAHI N MORIAUD F WEBER J: "A QSAR study confirming the heterogeneity of the HEPT derivative series regarding their interaction with HIV reverse transcriptase" EUROPEAN JOURNAL OF MEDICINAL CHEMISTRY.CHIMICA THERAPEUTICA,FR,EDITIONS SCIENTIFIQUE ELSEVIER, PARIS, vol. 32, no. 4, 1997, pages 279-299, XP004086652 ISSN: 0223-5234 cité dans la demande exemple 43</p> <p style="text-align: center;">---</p>	1-18
A	<p>LUCO, JUAN M. ET AL: "QSAR Based on Multiple Linear Regression and PLS Methods for the Anti-HIV Activity of a Large Group of HEPT Derivatives" J. CHEM. INF. COMPUT. SCI. (1997), 37(2), 392 -401, XP002172468 le document en entier</p> <p style="text-align: center;">---</p>	1-18
A	<p>JALALI-HERAVI, M. ET AL: "Use of Artificial Neural Networks in a QSAR Study of Anti-HIV Activity for a Large Group of HEPT Derivatives" J. CHEM. INF. COMPUT. SCI. (2000), 40(1), 147 -154, XP002172469 le document en entier</p> <p style="text-align: center;">-----</p>	1-18

RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

Renseignements relatifs aux membres de familles de brevets

Di de Internationale No

PCT/EP 02/00839

Document brevet cité au rapport de recherche		Date de publication	Membre(s) de la famille de brevet(s)	Date de publication
EP 0420763	A	03-04-1991	AT 182587 T	15-08-1999
			AU 642906 B2	04-11-1993
			AU 6326290 A	11-04-1991
			CA 2026226 A1	30-03-1991
			DD 299297 A5	09-04-1992
			DE 69033223 D1	02-09-1999
			DE 69033223 T2	23-12-1999
			DK 420763 T3	06-03-2000
			EP 0420763 A2	03-04-1991
			EP 0829476 A2	18-03-1998
			ES 2134758 T3	16-10-1999
			GR 3031231 T3	31-12-1999
			HU 55006 A2	29-04-1991
			KR 155168 B1	16-11-1998
			US 5461060 A	24-10-1995
			JP 2017110 C	19-02-1996
			JP 3279366 A	10-12-1991
			JP 7051567 B	05-06-1995
			ZA 9007701 A	31-07-1991
EP 0631783	A	04-01-1995	CA 2125054 A1	04-12-1994
			EP 0631783 A1	04-01-1995
			JP 7097324 A	11-04-1995
			US 5604209 A	18-02-1997